

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
MORFOLOŠKA VARIABILNOST DVEH OZKO
SORODNIH VRST SENOŽETNIKOV, *Colias hyale* IN *C.*
alfacariensis (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)

KAJA VUKOTIĆ

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

Morfološka variabilnost dveh ozko sorodnih vrst senoženikov, *Colias hyale* in *C. alfacariensis* (Lepidoptera: Pieridae)

(Morphological variability of two closely related species, *Colias hyale* and *C. alfacariensis* (Lepidoptera: Pieridae))

Ime in priimek: Kaja Vukotić

Študijski program: Biodiverziteta

Mentor: doc. dr. Jure Jugovic

Somentor: mag. Toni Koren

Koper, avgust 2014

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Kaja VUKOTIĆ

Naslov zaključne naloge: Morfološka variabilnost dveh ozko sorodnih vrst senoženikov, *Colias hyale* in *C. alfacariensis* (Lepidoptera: Pieridae)

Kraj: Koper

Leto: 2014

Število listov: 21

Število slik: 12

Število preglednic: 9

Število prilog: 1

Št. strani prilog: 1

Število referenc: 36

Mentor: doc. dr. Jure Jugovic

Somentor: mag. Toni Koren

Ključne besede: belini, razlikovanje vrst, zunanja morfologija, morfologija kril, morfologija genitalij

Izvleček:

V zaključni nalogi smo proučevali morfološko variabilnost bledega (*Colias hyale* (Linnaeus 1758)) in rumenega (*C. alfacariensis* (Ribbe 1905)) senoženika ter ugotavljali stopnjo podobnosti in razlik med obema v strukturi genitalij ter na osnovi morfologije zunanosti (kril, anten in oprsja). Kot pomagalo pri opisu morfološke variabilnosti obeh vrst smo uporabili tako univariatne kot multivariatne statistične analize in poiskali morfološke znake, ki vsaj deloma ločujejo samce obeh taksonov. Pregledali smo 25 številskih merjenih znakov na krilih, oprsju in anteni ter 13 številskih merjenih znakov na genitalijah; preverili smo tudi razlike v osmih razmerjih na krilih in sedmih razmerjih na genitalijah. Ugotovili smo, da je za razlikovanje od teh vsaj delno uporabnih pet znakov na krilih, štiri na genitalijah, poleg njih pa še tri razmerja (dva na krilih, ena na genitalijah). Bledi senoženik ima v povprečju krajšo razdaljo med bazo krila in apeksom na sprednjem krilu (FWL1), razdaljo med apeksom in spodnjim robom sprednjega krila (FWL2), manjšo površino sprednjega (FWS) in zadnjega krila (HWS) in krajše antene (AL) kot rumeni senoženik. Na genitalijah ima rumeni senoženik v povprečju manjšo površino valve (VS), ožji zgornji del valve (HW) in manjši kot med zobcem in stranico valve (γ), vendar daljši trn (TRNL) kot bledi senoženik. Med drugim ima rumeni senoženik večjo površino valve (VS), širšo glavo valve (HW) in večji kot med zobcem in stranico valve (γ). Pri rumenem senoženiku je razmerje med dolžino od baze krila do konca žile S7 in površino sprednjega krila (FWL1/FWS) v povprečju manjše kot pri bledem senoženiku, vendar je razmerje med kotom α in površino sprednjega krila (α /FWS) in razmerje med kotoma δ in γ na genitalijah (δ/γ) večje pri bledem senoženiku. Kljub razlikam v povprečjih med omenjenimi znaki lahko zaključimo, da se zaradi visoke variabilnosti teh dveh vrst na podlagi izbranih morfometričnih znakov ne da z gotovostjo ločiti.

Key words documentation

Name and SURNAME: Kaja VUKOTIĆ

Title of the final project paper: Morphological variability of two closely related species, *Colias hyale* and *C. alfacariensis* (Lepidoptera: Pieridae)

Place: Koper

Year: 2014

Number of pages: 21 Number of figures: 12 Number of tables: 9

Number of appendix: 1 Number of appendix pages: 1

Number of references: 36

Mentor: Assist. Prof. Jure Jugovic, PhD

Co-mentor: Toni Koren, MSc

Keywords: whites, differentiation of species, external morphology, wing pattern morphology, morphology of genitalia

Abstract:

In the final project paper we investigate morphological variability between *Colias hyale* (Linnaeus 1758) and *C. alfacariensis* (Ribbe 1905) (Lepidoptera, Pieridae) and search for similarities and differences in genitalia and external morphology (wings, antenna, thorax). We used univariate and multivariate statistical analyses and searched for morphometric characteristics which at least partly separate males of both taxa. We examined 25 metric characters on wings and 13 metric characters on genitalia; we also searched for differences in eight ratios on wings and seven in genitalia. Our results show five characters on wings, four in structures of genitalia and three ratios between measurements (two on wing, one on genitalia) that can be of help in separation of the two taxa. *C. hyale* has in average smaller length between wing basis and apex on fore-wing (FWL1), length between apex and anal angle of fore-wing (FWL2), smaller fore-wing (FWS) and hind-wing surface (HWS) and antenna length (AL), as *C. alfacariensis*. On the other hand *C. alfacariensis* has smaller valva surface (VS), upper valva width (HW) and smaller angle between tooth and valva side (γ), but it has longer thorn (TRNL) than *C. hyale*. In addition, *C. hyale* has larger valva surface (VS), wider head width (HW) and larger angle between tooth and valva (γ). *C. alfacariensis* has the ratio between length from wing basis till the end of S7 vein and front wing surface (FWL1/FWS) in average smaller than in *C. hyale*, but it has larger average values for the ratios: between angle α and front wing surface (α /FWS) and between δ and γ angles (δ/γ) on genitalia. Despite the noticed differences these are small. When also high variability of the two species is taken into account, we can not differ and correctly determine species on the basis of selected characters alone.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju doc. dr. Juretu Jugovicu za pomoč pri opravljanju statističnih analiz in urejanju zaključne naloge.

Zahvaljujem se mag. Toniju Korenu za vzorce, pomoč pri laboratorijskem in terenskem delu ter pregledu naloge.

Zahvaljujem se doc. dr. Andreju Sovincu in mag. Živi Fišer za strokovne komentarje in popravke, ki so zaključno nalogo še izboljšali.

Zahvaljujem se Stanislavu Gombocu za ponovno določanje živali.

Zahvaljujem se tudi vsem prijateljem, ki so mi pomagali pri zbiranju vzorcev na terenu.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
1.1	Razširjenost in biologija bledega in rumenega senoženika	2
1.2	Morfologija senoženikov	4
1.3	Morfološka variabilnost pri metuljih	6
1.4	Morfometrija	7
1.4.1	Primeri morfometrijskih raziskav pri metuljih	8
1.5	Namen dela in hipoteze	9
2	MATERIAL IN METODE	10
2.1	Izbor živali in identifikacija vrst	10
2.2	Priprava preparatov, fotografij in izbor znakov	13
2.3	Statistična analiza podatkov	18
3	REZULTATI Z DISKUSIJO	20
3.1	Osnovni statistični opis	20
3.2	Multivariatne statistične analize	21
3.2.1	Genitalije	21
3.2.2	Krila	23
4	ZAKLJUČEK	30
5	LITERATURA	31

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1. Razlike v zunanji morfologiji kril med vrstama blede senoženik, <i>Colias hyale</i> in rumeni senoženik, <i>C. alfacariensis</i> (Tolman in Lewington 2008).	5
Preglednica 2. Razlike med samci bledega senoženika, <i>Colias hyale</i> in rumenega senoženika, <i>C. alfacariensis</i> na osnovi genitalij (Higgins 1975).	5
Preglednica 3. Seznam vzorčnih lokacij, kjer so bile zbrane živali dveh vrst senoženikov (<i>Colias hyale</i> : N = 22; <i>C. alfacariensis</i> : N = 35) z osnovnimi podatki. Geografsko razporeditev vzorčnih mest po vrstah prikazuje Slika 5.	10
Preglednica 4. Seznam znakov, ki smo jih uporabili v morfometrijski analizi dveh vrst senoženikov, <i>Colias hyale</i> in <i>C. alfacariensis</i> (gl. Slika 6 in 7).	14
Preglednica 5. Opisna statistika za 13 znakov, v katerih povprečja se med vrstama <i>Colias alfacariensis</i> in <i>C. hyale</i> razlikujejo (T-test, $p < 0.1$). Zgornja vrsta: povprečje \pm std.odklon; spodnja vrstica: (min), 12. percentil – 88. percentil (max). Število živali: <i>C. alfacariensis</i> : N = 35, razen pri VS, LTTV, δ in δ/γ , kjer N = 34 živali; <i>C. hyale</i> : N = 22.	20
Preglednica 6. Lastne vrednosti in odstotki pojasnjene variance za pet primarnih komponent (PC) v analizi glavnih komponent za vrsti <i>Colias alfacariensis</i> in <i>C. hyale</i> . Upoštevanih je bilo pet morfometrijskih znakov na genitalijah (gl. Slika 7).	22
Preglednica 7. Korelacije petih znakov na genitalijah z diskriminacijsko osjo (gl. Slika 8).	23
Preglednica 8. Lastne vrednosti in odstotki pojasnjene variance za sedem primarnih komponent (PC) v analizi glavnih komponent za vrsti <i>Colias alfacariensis</i> in <i>C. hyale</i> . Upoštevanih je bilo sedem morfometrijskih znakov na krilih (gl. Slika 9).	24
Preglednica 9. Korelacije sedmih znakov na krilih z diskriminacijsko osjo.	25

KAZALO SLIK

Slika 1. Znana razširjenost bledega senoženika, <i>Colias hyale</i> (a) in rumenega senoženika, <i>C. alfacariensis</i> (b) (vir: http://www.butterfly-guide.co.uk/species/whites/turk7.htm).	3
Slika 2. Gosenica bledega senoženika, <i>Colias hyale</i> (a) in rumenega senoženika, <i>C. alfacariensis</i> (b), obe tik pred zabubljenjem (vir: http://kharkovbut.narod.ru/hyale.html).	4
Slika 3. Opisni morfološki znaki na krilih <i>Colias alfacariensis</i> (a) in <i>C. hyale</i> (b), ki se najpogosteje uporabljajo pri ločevanju obeh vrst na morfološki osnovi.	6
Slika 4. Geografski položaj lokacij rumenega senoženika, <i>Colias alfacariensis</i> (N= 35) in bledega senoženika, <i>C. hyale</i> (N = 22). Oznake vzorcev so enake kot v Preglednici 3.	13
Slika 5. Prikaz načina meritev številskih merjenih znakov na krilih, oprsju in anteni (25 znakov). Slike so bile fotografirane na milimetrskem papirju, kjer je en razdelek dolg 1 mm. Za razlago okrajšav glej Preglednico 4.	17
Slika 6. Prikaz načina meritev številskih merjenih znakov na genitalijah (13 znakov). Slike so fotografirane na milimetrskem papirju, kjer je en razdelek dolg 1 mm. Za razlago okrajšav glej Preglednico 4.	17
Slika 7. Projekcija 57 živali vrst <i>Colias alfacariensis</i> (rdeče pike, N = 35) in <i>C. hyale</i> (modre pike, N = 22) vzdolž prvih dveh primarnih komponent (Component 1, 2) ob upoštevanju petih znakov na genitalijah (vektorji; za razlago okrajšav gl. Preglednico 5).	22
Slika 8. Razporeditev frekvenc živali vrst <i>Colias alfacariensis</i> (rdeči stolpci) in <i>C. hyale</i> (modri stolpci) vzdolž diskriminacijske osi. Upoštevanih je bilo pet znakov na genitalijah (gl. Preglednico 7).	23
Slika 9. Projekcija 57 živali vrst <i>Colias alfacariensis</i> (rdeče pike, N = 35) in <i>C. hyale</i> (modre pike, N = 22) vzdolž prvih dveh primarnih komponent (Component 1, 2) ob upoštevanju sedmih znakov na krilih (vektorji; za razlago okrajšav gl. Preglednico 5).	24
Slika 10. Razporeditev frekvenc živali vrst <i>Colias alfacariensis</i> (rdeči stolpci) in <i>C. hyale</i> (modri stolpci) vzdolž diskriminacijske osi. Upoštevanih je bilo sedem znakov na krilih (gl. Preglednico 9).	25
Slika 11. Prikaz variabilnosti dveh številskih merjenih znakov (FWL2, FWS) in dveh razmerij (FWL1/FWS, α /FWS) na krilih ter dveh številskih merjenih znakov (LTTV, δ) na genitalijah pri <i>Colias alfacariensis</i> in <i>C. hyale</i> , ki so se v povprečnih vrednostih med vrstama najbolj razlikovali (T-test, $p < 0.05$).	26
Slika 12. Prikaz variabilnosti kril pri <i>Colias alfacariensis</i> (Slike a, c, d in f) in <i>C. hyale</i> (Slike b, č, e in g).	29

KAZALO PRILOG

Priloga A. Slika prikazuje ožiljenost sprednjega in zadnjega krila pri metuljih (Tolman in Lewington 2008).

1 UVOD

Družina belinov (Pieridae, Duponchel 1835) je velika skupina metuljev, ki vključuje ene od najpogostejših vrst dnevnih metuljev v Evropi, kot so kapusov belin (*Pieris brassicae* (Linnaeus 1758)), glogov belin (*Aporia crataegi* (Linnaeus 1758)) in navadni senoženik (*Colias crocea* (Geoffroy in Fourcroy 1785)). Odrasle živali so večinoma bele, rumene ali oranžne barve, z značilnimi črnimi posameznimi znaki. Spolni dimorfizem je pogosto opazen v številu in obsegu črnih znakov na krilih. Pripadnikom te družine je skupna razporeditev radialne vene, ki je na zgornjem krilu razcepljena na tri ali štiri veje, redko tudi na pet (Priloga A). Vključujejo vrste, ki so ekonomsko pomembni škodljivci rastlin, kot so glogov belin in rod pravih belinov (*Pieris*). Družina vključuje okoli 1100 vrst, ki so razdeljeni v 98 nižjih taksonov, 83 razredov in 15 podrazredov (Braby in sod. 2004).

Med beline s širokim območjem razširjenosti sodi tudi kozmopolitski rod *Colias*, katerega predstavniki so razširjeni na vseh celinah od Arktike do Antarktike; prisotni so v Evraziji, Afriki, Severni in Južni Ameriki, odsotni so le v Avstraliji. Zasedajo habitate od nižin pa vse do visokih gorovij (Cleary in sod. 2002). Predstavnik tega rodu, blede senoženik (*C. hyale* (Linnaeus 1758) in rumeni senoženik (*C. alfacariensis* (Ribbe 1905) (Brutnon 1998), sta ciljni vrsti naše raziskave.

Zaradi tesne sorodnosti bledega in rumenega senoženika (Brutnon 1998) in variabilnosti v obarvanosti kril in drugih znakov, ju težko medsebojno ločujemo (Cleary in sod. 2002). Tudi v preteklih morfometričnih raziskavah bledega in rumenega senoženika so dokazali, da se na podlagi zunanje morfologije kril in znakov vrsti težko ločita (Mérít in Mérít 2000). Tako sta omenjena avtorja v svoji raziskavi uporabila 13 znakov po Dutreixu (1980), ki temeljijo na opisnih znakih oblike in barve kril. Kljub temu, da izpostavljajo težko ločitev vrst, pa je bila ločitev med obema vrstama skoraj popolna. Poleg tega so ugotovili, da je razlikovanje med obema vrstama mogoče tudi na osnovi morfologije gosenic (gl. nadaljevanje), razlik v absorpciji UV svetlobe na luskah kril, obstajajo pa tudi jasne razlike v elektroforetskih profilih nekaterih encimov (Mérít in Mérít 2000).

Kudrna (1981) je raziskal zgodovino nomenklature bledega in rumenega senoženika. Izmed obeh vrst je bil najprej opisan rumeni senoženik (Linnaeus 1758), a kljub temu še dolgo po tem njegov obstoj ni bil poznan. Ribbe (1905) je prvi opazil, da se na jugu Španije, severno od vasi Alfacar, pojavlja oblika senoženika, ki se od znane populacije na tem območju (kasneje se je izkazalo, da je to rumeni senoženik) razlikuje v obarvanosti kril. Opazil je samce s svetlejšo obarvanostjo zgornje strani kril, in sivkasto rumeno obarvanostjo na spodnji strani zadnjih kril, kar bi danes ustrezalo vrsti bledega senoženika. Istega leta je Verity (1905) na območju južne Španije opisal in poimenoval

vrsto *Colias australis*, ki je bila kasneje preimenovana v *Colias alfacariensis* (Berger 1945). Tudi Berger je opazil dve obarvanosti gosenic (Kudrna 1981). Prvi je spoznal, da sta v bledem senoženiku, kot so ga poznali do tedaj, skriti dve različni vrsti, katerih odrasle živali se med seboj nekoliko ločijo le po obarvanosti kril, saj je blede senoženik za odtenek manj rumen kot novo opisani rumeni senoženik. Njuni gosenici pa se tudi na morfološki osnovi nedvoumno ločita (Slika 2a in b). Poleg tega je gosenica rumenega senoženika monofagna, saj se hrani le na navadni podkvici (*Hippocrepis comosa* L.), medtem ko je gosenica bledega senoženika oligofagna.

Filogenijo belinov so že raziskovali (npr. Courtney 1986, Brunton 1998, Stavenga in sod. 2004, Kemp in sod. 2005), a sta njihova sistematika in klasifikacija še vedno nedokončni (Braby in sod. 2004). Cleary in sod. (1995) so preučevali pretok genov med populacijama bledega in rumenega senoženika. Zbrali so 224 živali na območju Alp v jugovzhodnem delu Francije, na območju severne Francije in v Italiji. Ugotovili so nižjo gensko variabilnost in višjo stopnjo genskega pretoka med populacijami bledega senoženika in ponovno poudarili majhne razlike v morfologiji (gl. tudi Berger in Fontaine 1947, Jarvis 1955, Dutreix 1980) ter večje v izrabi virov in habitata med obema vrstama (gl. tudi Mérit in Mérit 2000).

1.1 Razširjenost in biologija bledega in rumenega senoženika

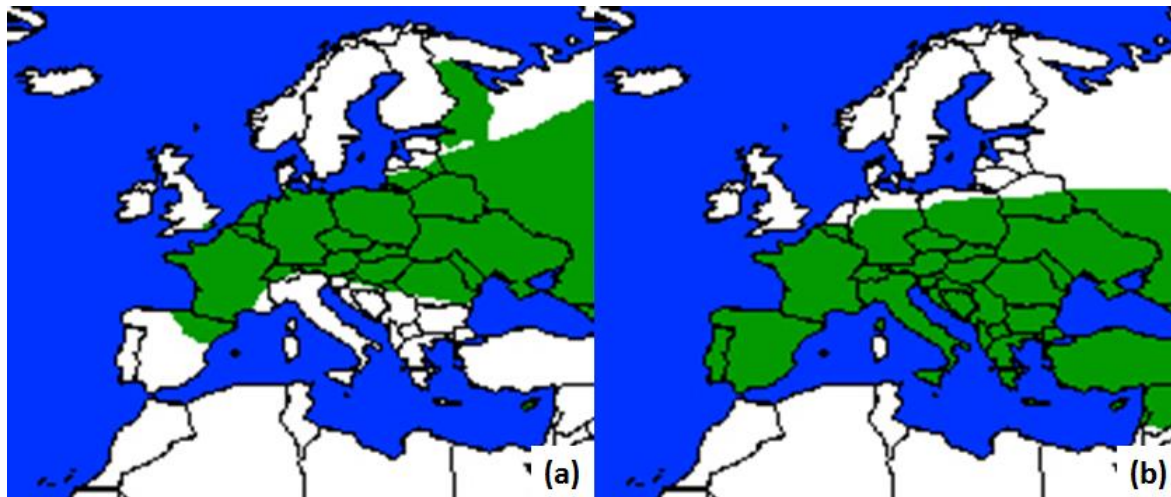
Bledi senoženik je razširjen po večjem delu Evrope. Prisoten je v Španiji, na jugu Evrope od Pirenejev do Nemčije, na jugu Finske in severu Bolgarije (Slika 1a). Ne pojavlja pa se v Italiji, zahodnem in jugozahodnem Balkanu, Grčiji in na Mediteranskih otokih. Nadmorska višina pojavljanja je od 0 m do 1800 m. Odrasle živali so aktivne od zgodnjega maja do zgodnjega oktobra, v dveh ali treh generacijah, odvisno od lokalnih razmer. Primeren habitat zanj so cvetoče in travnate površine na bogatih tleh. Hranilne rastline gosenic so lucerna (*Medicago sativa* L.), hmeljna meteljka (*Medicago lupulina* L.), navadna nokota (*Lotus corniculatus* L.), črna detelja (*Trifolium pratense* L.), navadna podkvica (*Hippocrepis comosa* L.), pisana šmarna detelja (*Coronilla varia* L.) in ptičja grašica (*Vicia cracca* L.). V zimskem času hibernira kot gosenica v zgodnji fazi razvoja. Zrela gosenica je zeleno obarvana z vzdolžno blede rumeno linijo tik pod poklopci (spirakli) (Slika 2a) (Tolman in Lewington 2008).

Medtem ko se blede senoženik v Evropi pojavlja nekoliko bolj severno, je rumeni senoženik razširjen predvsem v južni in centralni Evropi, vključno z Balearskimi otoki, Korziko, Sicilijo, pa do 54° vzporednika na severu (Slika 1b). Odsoten je v Britaniji, severnem delu Nizozemske in v severni Nemčiji ter na Poljskem. Leti od nižin (0 m n.v.)

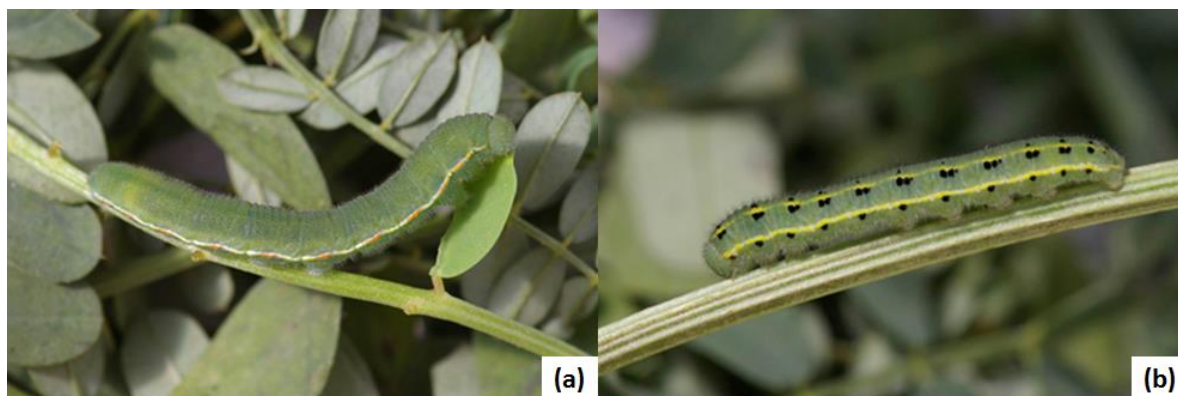
in vse do 2100 m. Vzhodna meja razširjenosti ni jasno določena, saj se ponekod pojavlja simpatrično z rumenim senoženikom. Leta od aprila do oktobra. Ima dve do tri generacije, odvisno od lokalnih razmer (Tolman in Lewington 2008).

Rumeni senoženik izbira skalnata pobočja, jarke in suha travnata območja, pogosto z nizkim grmičevjem, skoraj vedno na apnenčasti podlagi. Hranilni rastlini gosenic so navadna podkvica in pisana šmarna detelja. Odrasle samice odlagajo jajčeca na zgornjo stran listov omenjenih rastlin. Na Slovaškem, kjer navadna podkvica ni prisotna, so omejene na pisano šmarno deteljo. Gosenice so v zadnjem stadiju razvoja zeleno obarvane z dvema rumenima hrbtnima linijama pod poklopci in posameznimi črnimi segmentnimi pikami ob strani (Slika 2b). Žival prezimi v obliki mlade gosenice v začetni fazi razvoja (Tolman in Lewington 2008).

Ko se vrsti pojavljata simpatrično, izbirata nekoliko drugačen habitat. Bledega senoženika lahko največkrat opazujemo na vlažnih obdelanih travnikih, medtem ko je rumeni senoženik prisoten predvsem v suhih neobdelanih habitatih (Cleary in sod. 2002). V zadnjem času so opazili upad bledega senoženika na severnem delu Evrope, verjetno zaradi opuščanja pridelave lucerne, ki je hranilna rastlina gosenice (Descimon 1994(5), cit. po Cleary in sod. 2002).



Slika 1. Znana razširjenost bledega senoženika, *Colias hyale* (a) in rumenega senoženika, *C. alfacariensis* (b) (vir: <http://www.butterfly-guide.co.uk/species/whites/turk7.htm>).



Slika 2. Gosenica bledega senoženika, *Colias hyale* (a) in rumenega senoženika, *C. alfacariensis* (b), obe tik pred zabubljenjem (vir: <http://kharkovbut.narod.ru/hyale.html>).

1.2 Morfologija senoženikov

Samice odraslih živali rodu *Colias* so svetlo-bledo rumene ali temno oranžne barve, medtem ko so samci od temno rumene do blede rumene barve pa vse do živo oranžne barve (Cleary in sod. 2002). Najbolj vidni razliki med vrstama naj bi bili naslednji: (1) znak v obliki osmice na zadnjem krilu, ki je pri rumenem senoženiku nekoliko temnejše (bolj intenzivno oranžno) in pri bledem senoženiku svetleje obarvan (bledo oranžno obarvan) ter (2) razpršenost temnejšega poprha na bazi zgornjega krila pri rumenem senoženiku je nekoliko manjša kot pri bledem senoženiku (Preglednica 1, Slika 3). Opisani znaki veljajo za samce in samice obeh vrst, vendar v praksi zaradi večje variabilnosti samic (Tolman in Lewington 2008) lažje ločujemo samce. V literaturi navajajo še nekatere druge opisne znake, ki so lahko v pomoč pri razlikovanju obeh vrst (Preglednica 1, Slika 3; Tolman in Lewington 2008).

Pri gosenicah rumenega senoženika opazimo značilne črne pike tik poleg vzdolžne rumene linije pod spirakli (Slika 2b). Gosenice bledega senoženika nikoli niso črno obarvane in vedno le z eno svetlo linijo na vsakem boku (Slika 2a). Tako ju tudi ločimo med seboj.

Preglednica 1. Razlike v zunanji morfologiji kril med vrstama blede senoženik, *Colias hyale* in rumeni senoženik, *C. alfacariensis* (Tolman in Lewington 2008).

Znak	<i>C. hyale</i>	<i>C. alfacariensis</i>
Oblika zgornjega krila	manj zaobljena	bolj zaobljena
Obarvanost zgornje strani kril	bledo rumena barva	rumena barva
Razpršenost poprha na bazi sprednjih kril	enotna, se ne razteza v notranjost kril	se razteza do črne pike na stičišču celice, S5 in S4
Rob črne obarvanosti vrha prednjega krila	nazobčan	bolj raven (pogosto), manj intenziven
Znak (osmica) na zadnjem krilu	manjši, blede oranžne barve	večji (v večini primerov), obarvan s temnejšo oranžno

Pri prepoznavanju obeh vrst na morfološki osnovi si navadno pomagamo s pregledom genitalij (Higgins 1975). Genitalije so vsaj pri samcih dober določevalni znak, saj v njihovi strukturi med vrstama obstajajo jasne razlike in nedvoumno omogočajo razlikovanje bledega in rumenega senoženika. Valva je pri bledem senoženiku ožja kot pri rumenem senoženiku, vendar je iz ventralnega pogleda v sredinjskem delu širša pri rumenem senoženiku. Prav tako je pri rumenem senoženiku zob na posteriornem delu večji in bolj oddaljen od posteriornega roba valve. Pri bledem senoženiku je zob, ki je na valvo pritrjen pod ostrim kotom, vitkejši kot pri rumenem senoženiku. Posteriorno-anteriorni pogled hrbtne razširitve valve *in situ* je pri bledem manjša, pri rumenem senoženiku pa večja (Higgins 1975). Opis genitalij pri samcih obeh vrst je podan v Preglednici 2.

Preglednica 2. Razlike med samci bledega senoženika, *Colias hyale* in rumenega senoženika, *C. alfacariensis* na osnovi genitalij (Higgins 1975).

Znak	<i>C. hyale</i>	<i>C. alfacariensis</i>
Valva iz strani	ožja	širša
Zob na posteriornem robu	vitek, pod ostrim kotom na osnovo	večji, bolj oddaljen od posteriornega roba valve
Baza zoba	ožja	širša
Posteriorno-anteriorni pogled hrbtne razširitve valve <i>in situ</i>	manjša	večja



Slika 3. Opisni morfološki znaki na krilih *Colias alfacariensis* (a) in *C. hyale* (b), ki se najpogosteje uporabljajo pri ločevanju obeh vrst na morfološki osnovi.

1.3 Morfološka variabilnost pri metuljih

Živali se pojavljajo v različnih okoljih. Posamezniki so v izrabljanju različnih ekoloških niš in izkoriščanju hranil različno uspešni, ta dva dejavnika pa sta med ključnimi za pojav znotrajvrstne variabilnosti (Chaves in Alves 2013).

Tudi Bolnick in sod. (2003) poročajo, da na morfološko variabilnost pri metuljih vpliva uporaba različnih virov znotraj habitata. Razlike med živalmi v populaciji se najpogosteje odražajo kot posledica ekološkega pritiska, različne izpostavljenosti plenilcem, tekmovanja za primerne paritvene partnerje, vse pa je močno povezano s kvaliteto habitata in razpoložljivostjo hranilnih snovi (Fairbairn in sod. 2007). Poleg tega nekatere vrste kot odgovor na spremembe v temperaturi in fotoperiodi (dolžini dneva) razvijejo fenotipsko plastičnost, ki se odraža v različni obarvanosti kril in oblikovanosti vzorca na krilih (Shapiro 1976, Brakefield in sod. 1996, Brakefield in French 1999).

1.4 Morfometrija

Morfometrija vključuje merjenje in analizo oblik pri organizmih. To ni samostojna disciplina, ampak je uporabljena v vedah kot so antropologija, citologija, entomologija, geologija in paleobiologija. Določene znake, ki jih izmerimo, nato analiziramo s pomočjo računalniških programov. Primera pogosto uporabljenih analiz sta analiza glavnih komponent (Principal Component Analysis, PCA) in diskriminacijska analiza (Discriminant Function Analysis, DA) (Daly 1985).

Eden od namenov morfometrije pri metuljih je določiti znake in oblike, ki bodo uporabno orodje za pravilno določanje ozko sorodnih vrst, ki so si v obliki in velikosti znakov zelo podobne in znotrajvrstno variabilne (Daly 1985). Med drugim morfometrične študije dokazujejo, kako oblika in velikost posameznikov vplivajo na način prehranjevanja, zmožnosti medvrstnega tekmovanja pod vplivom selekcijskega pritiska v mikrohabitatu, katerega naseljujejo (Peres-Neto 1995).

1.4.1 Primeri morfometrijskih raziskav pri metuljih

Dapporto (2008) je s pomočjo geometrijske morfometrije raziskoval razlike v strukturi genitalij med dvema vrstama iz rodu *Lasiommata*, *L. megera* (Linnaeus 1767) in *L. paramegera* (Hübner 1824) v Mediteranskem bazenu. *Lasiommata megera* naseljuje Sardinijo, *L. paramegera* pa Korziko. Raziskovalec je predvideval, da kot posledica migracijskih poti med otokoma lahko prihaja do hibridizacije med populacijama. Z različnimi statističnimi analizami je želel dokazati, da obstajata dve ločeni populaciji, in med njima potencialna hibridizacijska cona. Osredotočil se je na genitalije samcev, ki so dober pokazatelj razlik med vrstama. Morfometrijska analiza je potrdila jasne razlike v strukturi genitalij med obema vrstama in nezmožnost hibridizacije (Dapporto 2008).

V drugem primeru so v delu raziskave proučevali medvrstno prepoznavo dveh severnoameriških simpatričnih vrst modrinov (Lycaenidae), *Lycaeides idas* (Masters 1972) in *L. melissa* (Edwards 1873). Genetske raziskave so pokazale, da sta vrsti pred kratkim divergirali. Vrsti se lepo ločita tako po zunanji morfologiji kril kot strukturi genitalij pri samcih. Različni sta v izrabljanju ekoloških niš in hranilnih vrst rastlin. Med drugim so merili zunanje morfološke znake pri samicah tudi zato, da bi dokazali, da samci prepoznajo istovrstne samice po velikosti in vzorcu kril in to deloma potrdili. Pokazali so tudi, da se vrsti lahko ločita po dveh znakih. Pri *L. melissa* so pike na zadnjem krilu dobro izražene, medtem ko so pri *L. idas* pike manjše. Tudi oranžna obarvanost na spodnjem delu zadnjega krila je intenzivnejša pri *L. melissa*, kot pri *L. idas* (Fordyce in sod. 2002).

Medtem ko sta opisani raziskavi primer morfometričnih in statističnih analiz, ki sta pokazali razlike med vrstama na zunanji morfologiji kril, v podobni raziskavi na vrstah modrinov (Lycaenidae) *Cupido minimus* (Fuessly 1775) in *C. carswelli* (Stempffer 1927) niso ugotovili razlik ne v strukturi genitalij ne kril (Prieto in sod. 2009), iz česar zaključujejo, da gre v primeru *C. carswelli* le za sinonim vrsti *C. minimus*. So pa našli razlikovalne znake med dvema drugima vrstama kupidov, *C. lorquinii* in *C. osiris*, in jih s pomočjo multivariatnih statističnih analiz uspešno razlikovali.

Raziskavo variabilnosti v morfologiji kril pri treh ozko sorodnih vrstah rodu *Melitaea* (Lepidoptera: Nymphalidae: *M. athalia* (Rottemburg, 1775), *M. aurelia* (Nickerl, 1850) in *M. britomartis* (Assmann, 1847)) z zahodnega Balkana, kjer se vse pojavljajo simpatrično, sta opravila Jugovic in Koren (2014). Morfologija kril vseh treh vrst se je izkazala za nezanesljivo pri identifikaciji vrst, čeprav so različni morfološki znaki v splošni uporabi pri identifikaciji teh treh vrst. Avtorja kot razlog za oteženo razlikovanje med vrstami navajata predvsem visoko stopnjo tako znotraj kot medvrstne variabilnosti. Pri teh vrstah je ponekod pogost pojav tudi melanizem, kar dodatno otežuje ločitev vrst na podlagi

barvnega vzorca in velikosti kril. Vseeno so bile razlike v strukturi genitalij vsaj pri samcih med temi vrstami dovolj očitne za zanesljivo identifikacijo (Jugovic in Koren 2014).

1.5 Namen dela in hipoteze

Na osnovi morfološke in morfometrijske študije samcev obeh vrst smo opisali variabilnost v morfologiji kril in genitalij. Predvidevamo, (1) da bomo poleg že znanih razlik na genitalnih strukturah našli še dodatne znake na genitalijah in krilih, ki bodo ločevanje na morfološki osnovi med obema vrstama olajšali. Tudi če bodo razlike majhne, predvidevamo, (2) da bodo vsaj nekatere statistično značilne ter (3) da bo ločevanje med vrstama bolj učinkovito na podlagi genitalnih struktur kot na osnovi morfologije kril.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Izbor živali in identifikacija vrst

Vzorci živali so bili zbrani v Sloveniji, na Hrvaškem, v Bosni in Hercegovini, nekaj živali pa tudi v Albaniji, na Češkem, v Grčiji, Franciji, Romuniji in na Madžarskem. Vsega skupaj smo zbrali 57 samcev (gl. Preglednico 3 in Sliko 4). Živali so shranjene v osebni zbirki Tonija Korena. Laboratorijski del raziskave je potekal na Inštitutu za Biodiverzitetne študije Znanstveno raziskovalnega središča Univerze na Primorskem v Izoli.

Proučevali smo le samce, saj se glede na literaturne podatke (Higgins 1975) predvsem na osnovi morfologije genitalij lažje ločujejo. Vrsto smo določili na podlagi struktur v genitalijah pod lupo s pomočjo že pripravljenih preparatov (Higgins 1975). Po identifikaciji je ponovno določevanje genitalij opravil Toni Koren, del vzorcev pa tudi Stanislav Gomboc.

Preglednica 3. Seznam vzorčnih lokacij, kjer so bile zbrane živali dveh vrst senožetnikov (*Colias hyale*: N = 22; *C. alfacariensis*: N = 35) z osnovnimi podatki. Geografsko razporeditev vzorčnih mest po vrstah prikazuje Slika 5.

ID	Vrsta	Lokacija	Datum	Zbiratelj	N	E
Češka						
<i>Colias65</i>	<i>C. hyale</i>	Tsjechič, Krušné hory, 5 km iz Chomutov	20.5.2012	David Seidon, Marc Grigis	50.463966	13.400380
Madžarska						
<i>Colias18</i>	<i>C. hyale</i>	Fegyvernek	8.10.2010	Toni Koren	47.263751	20551634
Romunija						
<i>Colias2</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Pascani	12.8.2011	Toni Koren	47.248659	26.724672
Slovenija						
<i>Colias59</i>	<i>C. hyale</i>	Kozina, Sežana	21.9.2013	Toni Koren	45.610012	13.932543
<i>Colias9</i>	<i>C. hyale</i>	Rakitovec, Koper	10.5.2012	Mitja Črne	45.461553	13.963963
<i>Colias6</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Rakitovec, Koper	15.5.2012	Mitja Črne	45.468672	13.969027
Hrvaška						
<i>Colias19</i>	<i>C. hyale</i>	Hum na Sutli	9.7.2011	Toni Koren	46.214689	15.695918
<i>Colias48</i>	<i>C. hyale</i>	Duboševica, Topolje,	27.7.1989	Stjepan Krčmar	45.884691	18.687658
<i>Colias53</i>	<i>C. hyale</i>	Osijek-Baranja	27.7.1989	Stjepan Krčmar	45.884691	18.687658
<i>Colias10</i>	<i>C. hyale</i>	Duboševica, Topolje,				
<i>Colias11</i>	<i>C. hyale</i>	Osijek-Baranja	25.8.2012	Toni Koren	45.801273	18.655035
<i>Colias11</i>	<i>C. hyale</i>	Popovac, Baranja	25.8.2012	Toni Koren	45.801273	18.655035
<i>Colias49</i>	<i>C. hyale</i>	Popovac, Baranja	15.6.1988	Stjepan Krčmar	45.792441	18.818128
<i>Colias49</i>	<i>C. hyale</i>	Zmajevac				

(se nadaljuje)

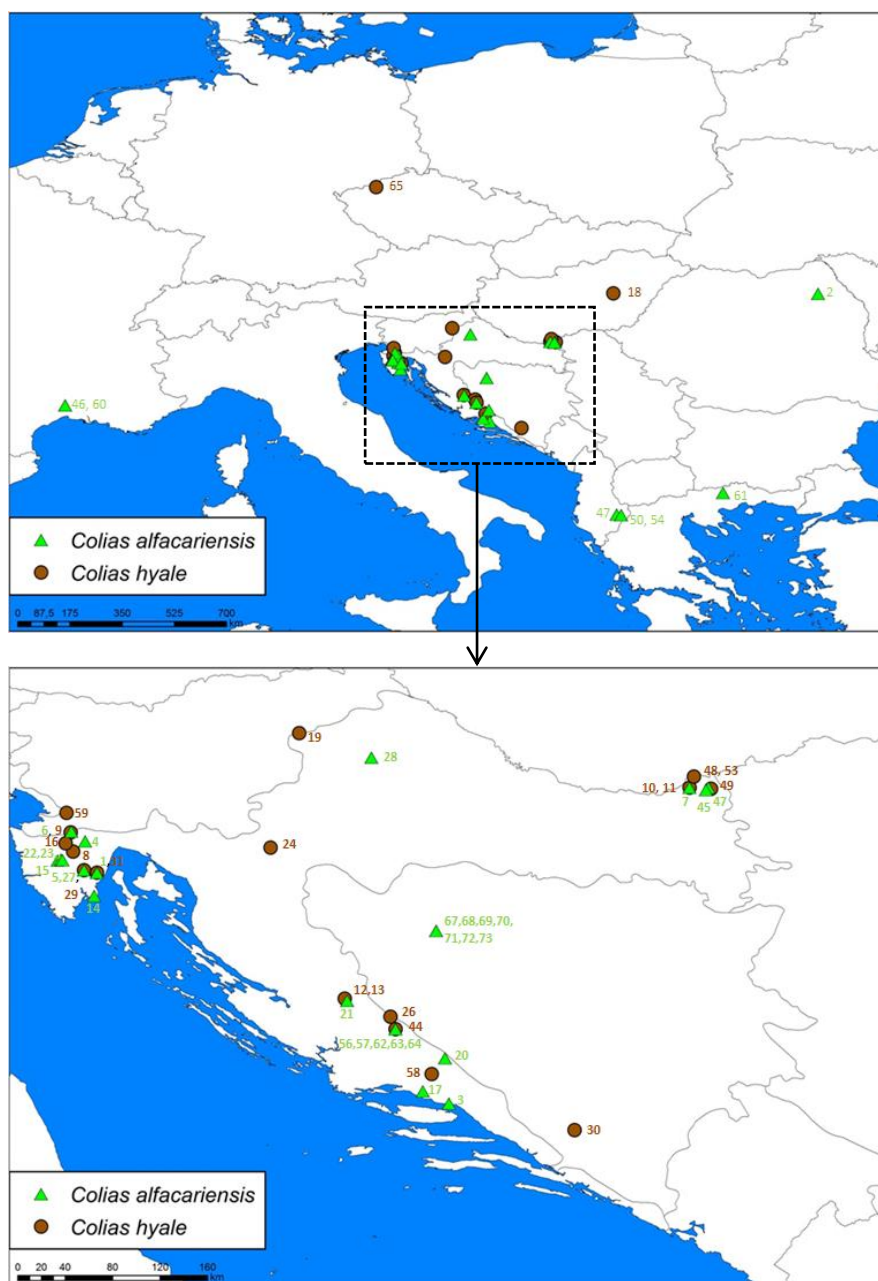
Preglednica 3. (nadaljevanje)

ID	Vrsta	Lokacija	Datum	Zbiratelj	N	E
Hrvaška						
<i>Colias</i> 16	<i>C. hyale</i>	Sovinjak	25.6.2007	Toni Koren	45.378369	13.925521
<i>Colias</i> 24	<i>C. hyale</i>	Lučica	1.7.2002	Toni Koren, Ladavac	45.345610	15.479396
<i>Colias</i> 8	<i>C. hyale</i>	Grimalda, Istra	14.6.2012	Toni Koren	45.316171	13.98200
<i>Colias</i> 31	<i>C. hyale</i>	Sveta Katarina, Istra	10.4.2011	Toni Koren	45.173600	14.064782
<i>Colias</i> 29	<i>C. hyale</i>	Vozilići, Istra	19.5.2012	Toni Koren	45.155281	14.164238
<i>Colias</i> 12	<i>C. hyale</i>	Zrmanja Vrelo	2.7.2010	Toni Koren	44.199437	16.041402
<i>Colias</i> 13	<i>C. hyale</i>	Zrmanja Vrelo	1.7.2010	Toni Koren	44.199437	16.041402
<i>Colias</i> 26	<i>C. hyale</i>	Guge, Knin, Dinara	6.8.2012	Mitja Črne	44.062497	16.387777
<i>Colias</i> 44	<i>C. hyale</i>	Guge, Knin, Dinara	15.5.2012	Boris Lauš	44.062497	16.387777
<i>Colias</i> 64	<i>C. hyale</i>	Ruda, 500 m S, Cetina	27.6.2013	Toni Koren	43.969191	16.426361
<i>Colias</i> 58	<i>C. hyale</i>	Košute, 500m N	27.6.2013	Toni Koren	43.627488	16.701048
<i>Colias</i> 28	<i>C. alfacariensis</i>	Bedenica	8.7.2012	Toni Koren	46.029600	16.244370
<i>Colias</i> 45	<i>C. alfacariensis</i>	Zmajevac	8.4.1989	Stjepan Krčmar	45.801537	18.798301
<i>Colias</i> 7	<i>C. alfacariensis</i>	Popovac, Baranja	25.8.2012	Toni Koren	45.801273	18.655035
<i>Colias</i> 52	<i>C. alfacariensis</i>	Zmajevac, Suza, Osijek-Baranja	2.7.1988	Stjepan Krčmar	45.782888	18.779424
<i>Colias</i> 4	<i>C. alfacariensis</i>	Kompanj, Istra	12.5.2012	Toni Koren	45.393616	14.073290
<i>Colias</i> 22	<i>C. alfacariensis</i>	Beram, Istra	27.8.2007	Toni Koren	45.255036	13.890303
<i>Colias</i> 23	<i>C. alfacariensis</i>	Beram, Istra	29.8.2007	Toni Koren	45.251618	13.902995
<i>Colias</i> 15	<i>C. alfacariensis</i>	Vela Traba, Istra	4.7.2008	Toni Koren	45.248002	13.865010
<i>Colias</i> 1	<i>C. alfacariensis</i>	Sveta Katarina, Istra	10.4.2011	Toni Koren	45.173600	14.064782
<i>Colias</i> 5	<i>C. alfacariensis</i>	Vozilići, Istra	9.5.2012	Toni Koren	45.156295	14.162307
<i>Colias</i> 27	<i>C. alfacariensis</i>	Vozilići, Istra	19.5.2012	Toni Koren	45.155281	14.164238
<i>Colias</i> 14	<i>C. alfacariensis</i>	Skitača, Istra	19.7.2008	Toni Koren	44.980968	14.141717
<i>Colias</i> 21	<i>C. alfacariensis</i>	Zrmanja Vrelo	1.5.2010	Toni Koren	44.184113	16.060113
<i>Colias</i> 56	<i>C. alfacariensis</i>	Ruda, 500 m S, Cetina	27.6.2013	Toni Koren	43.969191	16.426361
<i>Colias</i> 57	<i>C. alfacariensis</i>	Ruda, 500 m S, Cetina	27.6.2013	Toni Koren	43.969191	16.426361
<i>Colias</i> 62	<i>C. alfacariensis</i>	Ruda, 500 m S, Cetina	27.6.2013	Toni Koren	43.969191	16.426361
<i>Colias</i> 63	<i>C. alfacariensis</i>	Ruda, 500 m S, Cetina	27.6.2013	Toni Koren	43.969191	16.426361
<i>Colias</i> 20	<i>C. alfacariensis</i>	Kamešnica, Gljev	24.5.2010	Toni Koren	43.748603	16.801545
<i>Colias</i> 17	<i>C. alfacariensis</i>	Mosor, Dubrava	28.5.2011	Toni Koren	43.498399	16.633328
<i>Colias</i> 3	<i>C. alfacariensis</i>	Marušići	16.6.2011	Toni Koren	43.404689	16.832312
Francija						
<i>Colias</i> 46	<i>C. alfacariensis</i>	Orthoux, Mas du Gentilhomme	30.5.2013	Marc Grigis	43.889705	40.28260
<i>Colias</i> 60	<i>C. alfacariensis</i>	Orthoux, Mas du Gentilhomme	25.5.2013	Marc Grigis	43.889705	40.28260
Bosna in Hercegovina						
<i>Colias</i> 67	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias</i> 68	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias</i> 69	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312

(se nadaljuje)

Preglednica 3. (nadaljevanje)

ID	Vrsta	Lokacija	Datum	Zbiratelj	N	E
Bosna in Hercegovina						
<i>Colias70</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias71</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias72</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias73</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Sanjski most, Tomina 800m S	28.7.2013	Kaja Vukotić	44.715080	16.735312
<i>Colias30</i>	<i>C. hyale</i>	Mostar, Blizanci 1km S	7.5.2012	Toni Koren	43.202800	17.782800
Albanija						
<i>Colias54</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Korce, Drenovë	21.7.2013	Toni Koren	40.582556	20.789180
<i>Colias50</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Korce, Drenovë	21.7.2013	Toni Koren	40.582556	20.789180
<i>Colias47</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Korce, Lavdar	21.7.2013	Toni Koren	40.601001	20.653492
Grčija						
<i>Colias61</i>	<i>C. alfacariensis</i>	Drama, Mt.Phalakron	26.7.2013	Toni Koren	41.251411	23.863227



Slika 4. Geografski položaj lokacij rumenega senoženika, *Colias alfacariensis* (N= 35) in bledega senoženika, *C. hyale* (N = 22). Oznake vzorcev so enake kot v Preglednici 3.

2.2 Priprava preparatov, fotografij in izbor znakov

Že vnaprej izprepariranim samcem smo odvzeli končni del zadkov. Nato smo zadke položili v epruveto z 10% raztopino KOH. Epruveto smo segrevali na gorilniku, dokler se genitalije niso ločile od tkiva v zadku. Genitalije smo položili v petrijevko, sprali z destilirano vodo in odstranili morebitno tkivo okoli struktur genitalij. Očiščene in osušene

strukture genitalij smo položili na objektivno steklo s kapljico euparala in previdno prekrili s krovnim steklom. Po sušenju preparatov na suhem in temnem prostoru smo vzorce uporabili za določevanje vrst.

Živali, položene na milimetrski papir, smo z zgornje in spodnje strani fotografirali pod pravim kotom (Sony DSC-HX200V), z razdalje 30 cm. Genitalije, prav tako položene na milimetrskem papirju, smo fotografirali skozi okular lupe (Leica).

Nato smo s pomočjo programa ImageJ izmerili 38 znakov, od tega 22 na krilih, dva na oprsju in en na anteni in 13 na genitalijah. Iz njih smo izračunali osem razmerij za znake na krilih in sedem razmerij za znake na genitalijah (Preglednica 4, Slika 6, Slika 7, Priloga A). Kadar je bilo le mogoče, smo znake merili na desni strani telesa.

Preglednica 4. Seznam znakov, ki smo jih uporabili v morfometrijski analizi dveh vrst senošetnikov, *Colias hyale* in *C. alfacariensis* (gl. Slika 6 in 7).

Zap. št.	Telesna regija/razmerje	Znak	Okrajšava	Tip znaka	Enota
Oprsje					
1		širina oprsja	TW	dolžina	mm
2		dolžina oprsja	TH	dolžina	mm
Antena					
3		dolžina antene	AL	dolžina	mm
Sprednje krilo					
4	zgornja stran	dolžina od baze krila do konca žile S7	FWL1	dolžina	mm
5	zgornja stran	dolžina od konca žile S7 do konca žile V1	FWL2	dolžina	mm
6	zgornja stran	dolžina od konca žile V1 do baze krila	FWL3	dolžina	mm
7	zgornja stran	dolžina od konca žile V2 do opazne razpršenosti poprha po žili V2	FWL4	dolžina	mm
8	zgornja stran	dolžina od baze krila do opazne razpršenosti poprha na spodnji stranici krila	FWL5	dolžina	mm
9	zgornja stran	širina črnega znaka na stičišču celice, S4 in S5	FWCSW	dolžina	mm
10	zgornja stran	dolžina črnega znaka na stičišču celice, S4 in S5	FWCSL	dolžina	mm

(se nadaljuje)

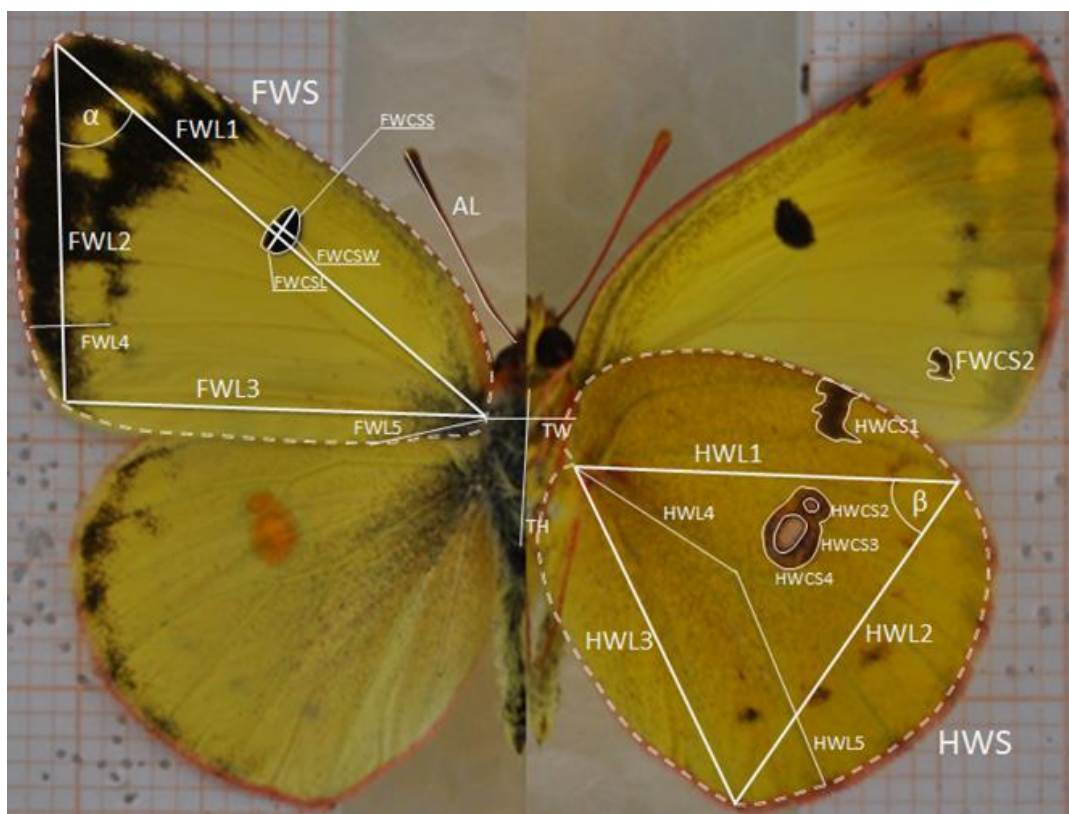
Preglednica 4. (nadaljevanje)

Zap. št.	Telesna regija/razmerje	Znak	Okrajšava	Tip znaka	Enota
11	zgornja stran	površina sprednjega krila	FWS	površina	mm ²
12	zgornja stran	površina črnega znaka med celico, S4 in S5	FWCSS	površina	mm ²
13	zgornja stran	kot med FWL1 in FWL2	α	stopinje	°
14	spodnja stran	površina znaka v celici S1b	FWCS2	površina	mm ²
Zadnje krilo					
15	spodnja stran	dolžina od baze krila do žile V8	HWL1	dolžina	mm
16	spodnja stran	dolžina od konca žile V8 do konca žile V1b	HWL2	dolžina	mm
17	spodnja stran	dolžina od konca žile V1b do baze krila	HWL3	dolžina	mm
18	spodnja stran	dolžina od baze krila po žili (ki se razcepi v V2) do razcepa žile V2	HWL4	dolžina	mm
19	spodnja stran	dolžina žile V2	HWL5	dolžina	mm
20	spodnja stran	površina zadnjega krila	HWS	površina	mm ²
21	spodnja stran	površina znaka na zgornjem robu krila v celici S7	HWCS1	površina	mm ²
22	spodnja stran	površina znaka v celici S5	HWCS2	površina	mm ²
23	spodnja stran	površina znaka v celici S6	HWCS3	površina	mm ²
24	spodnja stran	površina znaka med celicama S5 in S6	HWCS4	površina	mm ²
25	spodnja stran	kot med dolžino HWL1 in HWL2	β	stopinje	°
Genitalije					
26	valva	širina valve	VW	dolžina	mm
27	valva	dolžina valve	VL	dolžina	mm
28	valva	širina spodnjega dela zobca	TOW	dolžina	mm
29	valva	dolžina zobca	TL	dolžina	mm
30	valva	širina glave valve	HW	dolžina	mm
31	valva	širina zgornjega dela valve	LTTV	dolžina	mm
32	valva	dolžina trn	TRNL	dolžina	mm

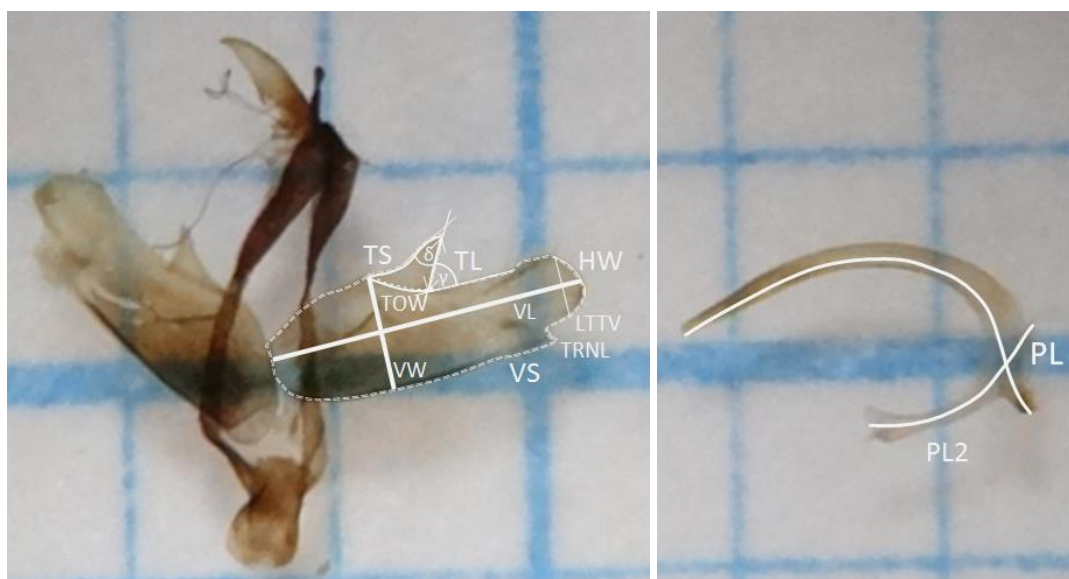
(se nadaljuje)

Preglednica 4. (nadaljevanje)

Zap. št.	Telesna regija/razmerje	Znak	Okrajšava	Tip znaka	Enota
33	valva	površina zobca	TS	površina	mm ²
34	valva	površina valve	VS	površina	mm ²
35	valva	kot med zgornjima stranicama zobca	δ	stopinja	°
36	valva	kot med zobcom in stranico valve	γ	stopinje	°
37	penis	dolžina zgornjega dela penisa	PL	dolžina	mm
38	penis	dolžina spodnjega dela penisa	PL2	dolžina	mm
Razmerja					
39			TW/AL		
40			FWCSS/FWS		
41			FWL1/FWS		
42			FWL3/FWL4		
43			FWL3/FWL5		
44			FWCSS/FWCSL		
45			FWCSW/FWCSS		
46			α /FWS		
47			VW/HW		
48			TL/HW		
50			VL/VW		
51			PL/PL2		
52			LTTV/TL		
53			TRNL/TL		
54			δ/γ		



Slika 5. Prikaz načina meritev številskih merjenih znakov na krilih, oprsju in anteni (25 znakov). Slike so bile fotografirane na milimetrskem papirju, kjer je en razdelek dolg 1 mm. Za razlago okrajšav glej Preglednico 4.



Slika 6. Prikaz načina meritev številskih merjenih znakov na genitalijah (13 znakov). Slike so fotografirane na milimetrskem papirju, kjer je en razdelek dolg 1 mm. Za razlago okrajšav glej Preglednico 4.

2.3 Statistična analiza podatkov

Za vse številske merjene znake in njihova razmerja smo najprej preverili ali med vrstama zanje obstajajo statistično značilne razlike (T-test; $p < 0.1$) in na podlagi tega kriterija opravili prvi izbor znakov. T-test je vsak statistični preizkus hipoteze, v kateri preskusna statistika sledi Studentovi porazdelitvi, če je podprta ničelna hipoteza. To se lahko uporablja za določitev, če se dva niza podatkov bistveno razlikujeta med seboj, in se najpogosteje uporablja, kadar preizkusna statistika sledi normalni porazdelitvi (Mankiewicz 2004). Na izbranih znakih smo nato preverili, ali podatki zanje pri vsaki od obeh vrst odstopajo od normalne porazdelitve (Kolmogorov Smirnov test, $p < 0.05$). Kolmogorov-Smirnov test je neparametrični test enakosti enodimenzionalne verjetnostne porazdelitve, ki se lahko uporablja za primerjavo vzorca z referenčno verjetnostno porazdelitvijo, ali pa za primerjavo dveh vzorcev. Kolmogorov-Smirnov test meri razdaljo med empiričnimi porazdelitvami funkcij vzorca in kumulativno porazdelitveno funkcijo referenčne porazdelitve ali med empiričnimi porazdelitvami funkcije dveh vzorcev. Ničelna porazdelitev te statistike se izračuna v skladu z ničelno hipotezo, da se vzorci odvzamejo iz iste porazdelitve (v primeru dveh vzorcev) ali da je vzorec sestavljen iz referenčne porazdelitve (v primeru enega vzorca) (Stephens 1974). Posebej za znake na genitalijah in krilih (v obeh primerih na združenih izbranih številskih merjenih znakih in razmerjih) smo preverili stopnjo soodvisnosti med njimi, ter iz para ali skupine visoko soodvisnih znakov (Paersonov korelacijski koeficient; genitalije: $|r| > 0.7$; krila: $|r| > 0.9$) ohranili le po en tak znak. Pearsonov koeficient korelacije (r_{xy}) je matematična in statistična številska mera, ki predstavlja velikost linearne povezanosti spremenljivk X in Y, merjenih na istem predmetu preučevanja. Koeficient je definiran kot vsota vseh produktov standardnih odklonov obeh vrednosti v razmerju s stopnjami prostosti, oziroma kot razmerje med kovarianco in produktom obeh standardnih odklonov (Zheng in sod. 2009).

S končnim naborom znakov smo najprej naredili analizo glavnih komponent (PCA), nato pa še diskriminacijsko analizo (DA). Analiza glavnih komponent je ena najpogosteje uporabljenih multivariatnih metod, ki se uporablja za zmanjšanje števila obravnavanih spremenljivk. Njen namen je večje število spremenljivk nadomestiti z manjšim številom njihovih obteženih vsot (komponent) (Jolliffe 2002). Diskriminacijska analiza je matematično-statistična struktura, ki zagotavlja celovito analizo razlike med dvema ali več izbranih skupin z dvema ali več kvantitativnima spremenljivkama (Jolliffe 2002).

Obe analizi smo naredili ločeno na matriki podatkov za izbrane znake na genitalijah, nato pa še na matriki podatkov za izbrane znake na krilih.

Za znake, pri katerih se je izkazala statistično značilna razlika v povprečjih med obema vrstama (T-test, $p < 0.1$) smo pripravili osnovni statistični opis. Za vsak tak znak smo izračunali povprečno vrednost, njegovo standardno napako ter prikazali najmanjše ter najvišje vrednosti, ter vrednosti za 12. in 88. percentil. Vrednosti znakov, ki so se med obema vrstama najbolj razlikovali (T-test, $p < 0.05$) smo prikazali tudi grafično s škatlami z ročaji (ang. box whiskers plots) (gl. Slika 11).

S serijo izbranih fotografij prikazujemo tudi variabilnost v obarvanosti kril (gl. Slika 13) ter komentiramo razlike, ki jih navaja literatura za najpomembnejše pri razlikovanju obeh vrst (gl. opisne znake v Preglednici 2).

Statistične analize smo opravili v naslednjih računalniških programih: Microsoft Excel (2010; priprava in obdelava podatkovnih razpredelnic), Palaeontological statistics (PAST: PCA; DA; <http://folk.uio.no/ohammer/past/>, <http://folk.uio.no/ohammer/past/past3manual.pdf>) ter SPSS 20.0 (priprava grafov škatel z ročaji, T-test, Kolmogorov-Smirnov test, izračun Paersonovih korelacij).

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

3.1 Osnovni statistični opis

Izmed 25 številskih merjenih znakov na krilih in 13 številskih merjenih znakov na genitalijah smo potrdili statistično značilne razlike (T-test, $p < 0.1$) v povprečnih vrednostih med bledim in rumenim senoženikom za 9 številskih merjenih znakov, poleg tega pa še izmed 15 razmerij za tri razmerja (dva na krilih, enega na genitalijah).

Večina znakov ima nižje povprečne vrednosti pri bledem senoženiku. Izjema sta dva znaka: dolžina trna na genitalijah (TRNL) in razmerje med kotom α in površino sprednjega krila (α/FWS), ki imajo pri tej vrsti višje povprečne vrednosti kot pri rumenem senoženiku (Preglednica 5).

Preglednica 5. Opisna statistika za 13 znakov, v katerih povprečja se med vrstama *Colias alfacariensis* in *C. hyale* razlikujejo (T-test, $p < 0.1$). Zgornja vrsta: povprečje \pm std.odklon; spodnja vrstica: (min), 12. percentil – 88. percentil (max). Število živali: *C. alfacariensis*: $N = 35$, razen pri VS, LTTV, δ in δ/γ , kjer $N = 34$ živali; *C. hyale*: $N = 22$.

Opis meritve		<i>C. alfacariensis</i>	<i>C. hyale</i>
Razdalja od baze krila do zgornjega roba apeksa	FWL2	14,30 \pm 0,828 (12,59)13,20-15,23(15,84)	13,82 \pm 0,915 (12,00)12,38-15,15(15,5)
Površina krila	FWS	235,65 \pm 23,503 (194,72)203,38-269,83(288,45)	223,07 \pm 21,190 (174,66)201,64-250,67(270,93)
Dolžina anten	AL	9,47 \pm 0,488 (8,44)8,96-10,12(10,40)	9,23 \pm 0,391 (8,31)8,65-9,68(9,82)
Dolžina od zgornjega roba apeksa do spodnjega roba apeksa	HWL2	15,53 \pm 0,843 (13,38)14,56-16,38(17,84)	15,12 \pm 0,889 (13,32)14,31-16,32(17,22)
Površina zadnjega krila	HWS	248,45 \pm 27,697 (194,49)210,76-281,80(336,41)	235,06 \pm 24,748 (180,22)209,92-272,27(289,57)
Površina valve	VS	0,70 \pm 0,062 (0,56)0,62-0,77(0,83)	0,66 \pm 0,096 (0,47)0,51-0,78(0,80)
Dolžina trna	TRNL	0,08 \pm 0,053 (0,00)0,00-0,13(0,19)	0,10 \pm 0,043 (0,00)0,05-0,15(0,20)
Dolžina od zobca do zgornjega roba valve	LTTV	0,56 \pm 0,048 (0,46)0,51-0,63(0,67)	0,54 \pm 0,049 (0,46)0,47-0,59(0,65)

(se nadaljuje)

Preglednica 5. (nadaljevanje)

Opis meritve		<i>C. alfacariensis</i>	<i>C. hyale</i>
Kot zgornjega dela zobca	δ	$33,96 \pm 5,878$ (22,76)27,59-41,42(45,63)	$28,47 \pm 6,151$ (19,64)20,11-38,48(40,08)
Razmerje med dolžino FWL1 in površino sprednjega krila	FWL1/FWS	$0,10 \pm 0,006$ (0,1)0,94-0,11(0,11)	$0,10 \pm 0,006$ (0,09)0,10-0,11(0,12)
Razmerje med kotom α in površino sprednjega krila	α/FWS	$0,20 \pm 0,022$ (0,17)0,17-0,24(0,25)	$0,22 \pm 0,024$ (0,18)0,18-0,25(0,28)
Razmerje med koti δ in γ	δ/γ	$0,55 \pm 0,133$ (0,32)0,39-0,74(0,96)	$0,48 \pm 0,109$ (0,26)0,37-0,64(0,69)

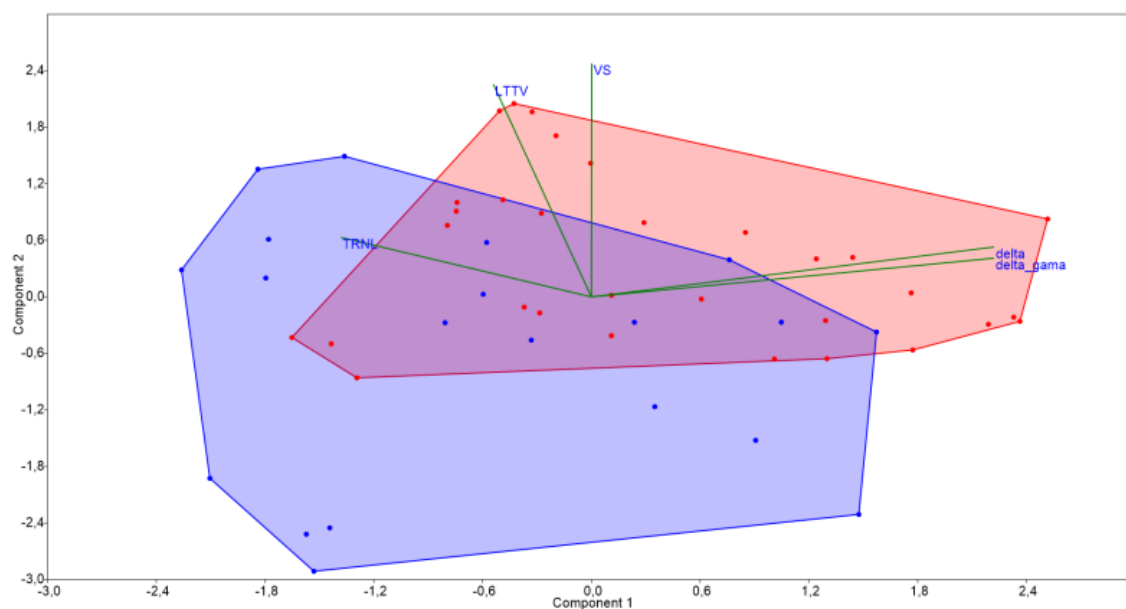
3.2 Multivariatne statistične analize

3.2.1 Genitalije

Izmed 13 številskih merjenih znakov in 7 razmerij na genitalijah so se štirje številski merjeni znaki in eno razmerje izkazali za statistično različne med obema vrstama (T-test, $p < 0.1$) in hkrati niso nakazovali odstopanj od normalne porazdelitve (Kolmogorov-Smirnov test, *C. hyale*: $p > 0.49$; *C. alfacariensis*: $p > 0.3$) niti niso bili visoko medsebojno soodvisni (Paersonov korelacijski koeficient; $r < 0.7$). Zato smo jih uporabili v analizi glavnih komponent (PCA, Slika 7), kamor smo vključili 22 samcev bledega in 35 samcev rumenega senožetnika. Prva kanonična os pojasnjuje 33.5 % skupne variabilnosti podatkov, druga in tretja pa nadaljnjih 26.1 % in 17.4 % variabilnosti podatkov (Preglednica 6). Projekcija živali vzdolž prvih dveh osi nakazuje visoko stopnjo prekrivanja med obema vrstama tako vzdolž prve kot vzdolž druge osi (Slika 7).

Preglednica 6. Lastne vrednosti in odstotki pojasnjene variance za pet primarnih komponent (PC) v analizi glavnih komponent za vrsti *Colias alfacariensis* in *C. hyale*. Upoštevanih je bilo pet morfometrijskih znakov na genitalijah (gl. Sliko 7).

PC	Lastna vrednost	% pojasnjene variance
1	1,67591	33,518
2	1,30553	26,111
3	0,87099	17,42
4	0,709037	14,181
5	0,43853	8,7706

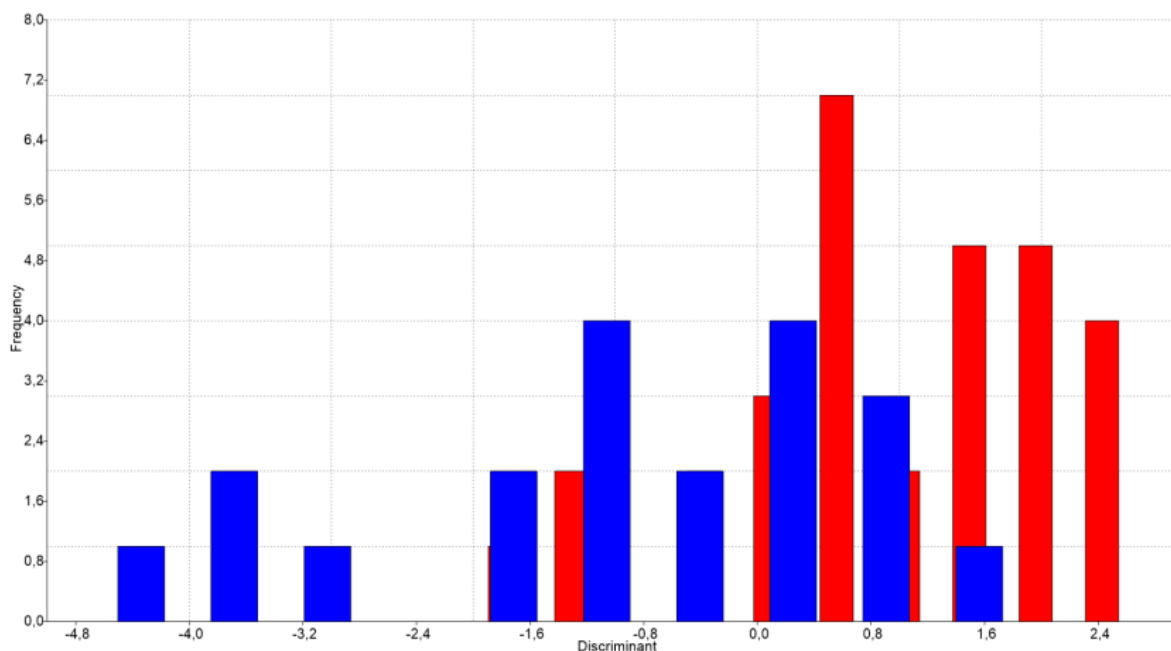


Slika 7. Projekcija 57 živali vrst *Colias alfacariensis* (rdeče pike, N = 35) in *C. hyale* (modre pike, N = 22) vzdolž prvih dveh primarnih komponent (Component 1, 2) ob upoštevanju petih znakov na genitalijah (vektorji; za razlago okrajšav gl. Preglednico 5).

Na osnovi enakih znakov in istega vzorca živali smo opravili še diskriminacijsko analizo (Slika 8). Ločitev obeh vrst je nepopolna, največ pa k ločitvi med obema vrstama prispeva dolžina med kotom zobca in robom glave valve (LTTV, gl. Preglednico 5), ki je pri rumenem senoženiku v povprečju višja. Na podlagi izbranih znakov na genitalnih strukturah se v pričakovano vrsto uvrsti 76.47 % živali.

Preglednica 7. Korelacije petih znakov na genitalijah z diskriminacijsko osjo (gl. Sliko 8).

Znak	(Simbol)	Korelacija
dolžina od zobca do roba valve	(LTTV)	16,5260
dolžina trna	(TRNL)	-6,9609
površina valve	(VS)	6,7853
razmerje med kotoma δ in γ	(δ/γ)	0,9659
kot δ	(δ)	0,1931



Slika 8. Razporeditev frekvenc živali vrst *Colias alfacariensis* (rdeči stolpci) in *C. hyale* (modri stolpci) vzdolž diskriminacijske osi. Upoštevanih je bilo pet znakov na genitalijah (gl. Preglednico 7).

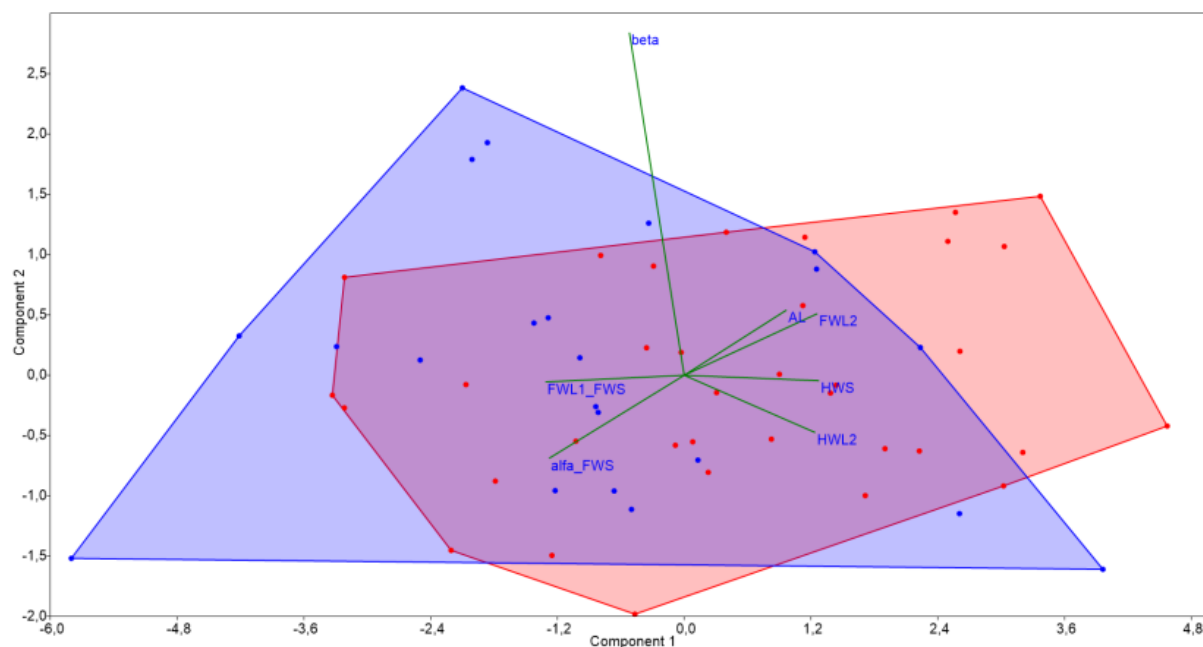
3.2.2 Krila

Izmed 33 znakov na krilih (25 številskih merjenih in 8 razmerij) se je šest številskih merjenih znakov skupaj z dvema razmerjema izkazalo za statistično različne med obema vrstama (T-test, $p < 0.1$). Vsi ti znaki niso nakazovali odstopanj od normalne porazdelitve (Kolmogorov-Smirnov test, *C. hyale*: $p > 0.55$; *C. alfacariensis*: $p > 0.5$) in niso bili visoko medsebojno soodvisni (Paersonov korelacijski koeficient; $r < 0.9$), zato smo jih uporabili v analizi glavnih komponent (PCA, Slika 9), kamor smo vključili 22 samcev bledega in 35 samcev rumenega senoženika. Prva kanonična os pojasnjuje 68.2% skupne variabilnosti podatkov, druga in tretja pa nadaljnjih 13.5 % in 8.8 % variabilnosti podatkov (Preglednica

8). Projekcija živali vzdolž prvih dveh osi nakazuje visoko stopnjo prekrivanja med obema vrstama tako vzdolž prve kot vzdolž druge osi (Slika 9).

Preglednica 8. Lastne vrednosti in odstotki pojasnjene variance za sedem primarnih komponent (PC) v analizi glavnih komponent za vrsti *Colias alfacariensis* in *C. hyale*. Upoštevanih je bilo sedem morfometrijskih znakov na krilih (gl. Slika 9).

PC	Lastna vrednost	% pojasnjene variance
1	4,77572	68,225
2	0,944357	13,491
3	0,61895	8,8421
4	0,313482	4,4783
5	0,167592	2,3942
6	0,099149	1,4164
7	0,080754	1,1536

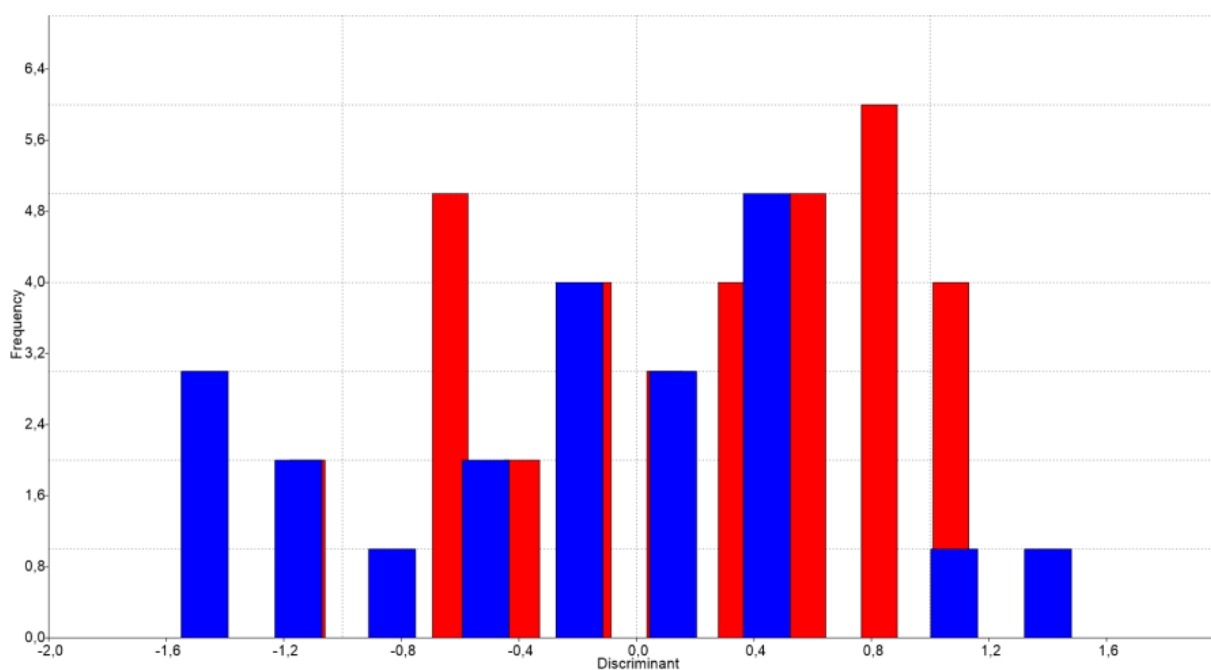


Slika 9. Projekcija 57 živali vrst *Colias alfacariensis* (rdeče pike, N = 35) in *C. hyale* (modre pike, N = 22) vzdolž prvih dveh primarnih komponent (Component 1, 2) ob upoštevanju sedmih znakov na krilih (vektorji; za razlago okrajšav gl. Preglednico 5).

Na osnovi enakih znakov in istega vzorca živali smo opravili še diskriminacijsko analizo (Slika 10). Ločitev obeh vrst je tudi v tem primeru nepopolna, največ pa k ločitvi med obema vrstama prispevata dolžina antene in dolžina od konca žile V7 do konca žile V1 (Preglednica 9), ki sta pri rumenem senoženiku v povprečju višja. Vsega skupaj se le 66.67 % vseh živali uvrsti v predvideno vrsto.

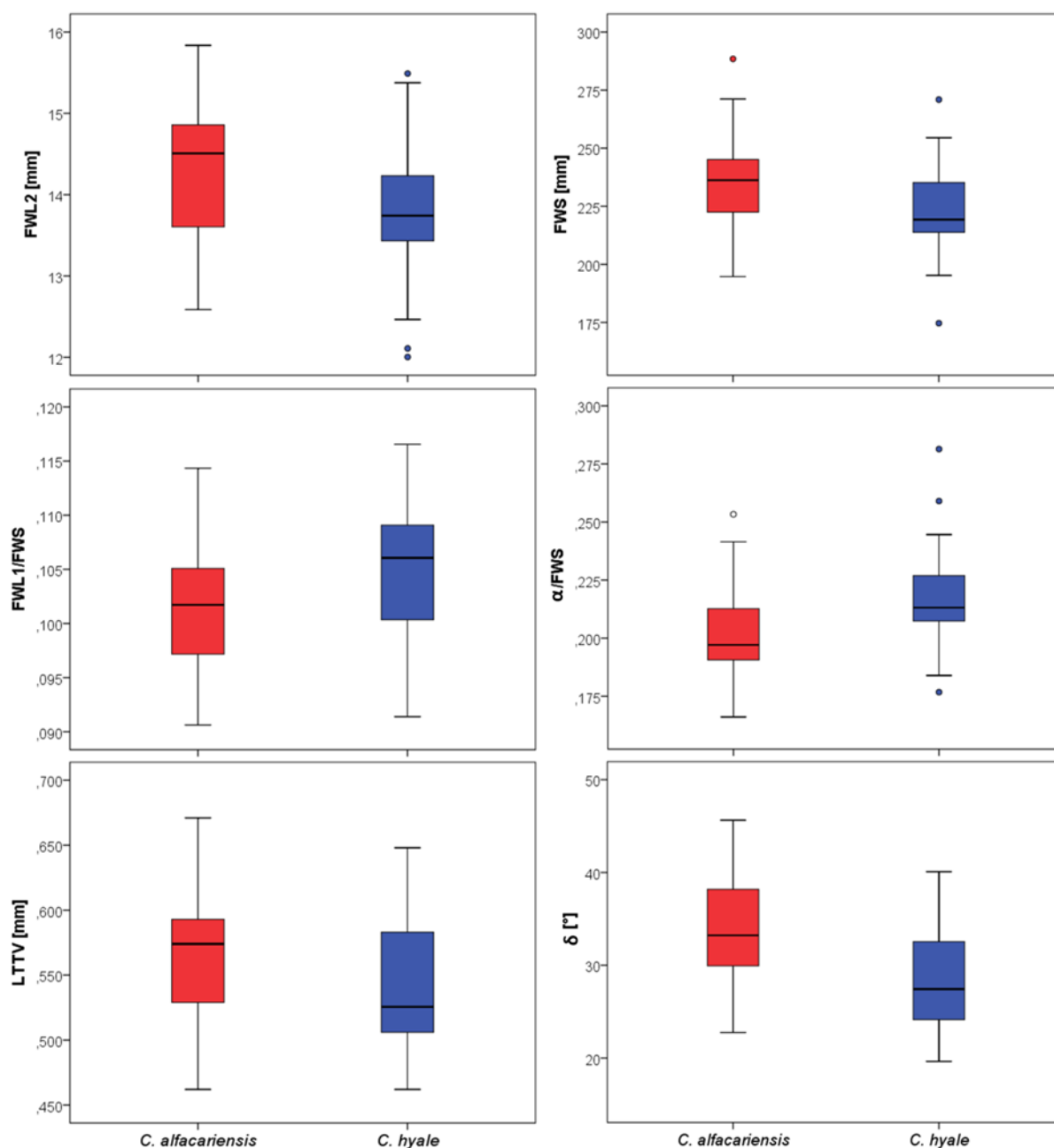
Preglednica 9. Korelacije sedmih znakov na krilih z diskriminacijsko osjo.

Znak	(Simbol)	Korelacija
dolžina antene	(AL)	0,6868
dolžina od konca žile V7 do konca žile V1	(FWL2)	0,31349
dolžina od konca žile V1b do konca žile V7	(HWL2)	-0,25377
kot β	(β)	-0,16562
površina sprednjega krila	(HWS)	0,00949
razmerje med kotom α in površino sprednjega krila	(α /FWS)	-0,00729
razmerje med FWL1 in površino sprednjega krila	(FWL1/FWS)	-0,0014889



Slika 10. Razporeditev frekvenc živali vrst *Colias alfacariensis* (rdeči stolpci) in *C. hyale* (modri stolpci) vzdolž diskriminacijske osi. Upoštevanih je bilo sedem znakov na krilih (gl. Preglednico 9).

Kljub temu, da se omenjeni znaki med vrstama statistično značilno razlikujejo (T-test, $p < 0.1$), pa se vrednosti vseh med obema vrstama močno prekrivajo, kot prikazujejo grafi škatel z ročaji (Slika 11, prikazani so samo znaki s $p < 0.05$).



Slika 11. Prikaz variabilnosti dveh številskih merjenih znakov (FWL2, FWS) in dveh razmerij (FWL1/FWS, α /FWS) na krilih ter dveh številskih merjenih znakov (LTTV, δ) na genitalijah pri *Colias alfacariensis* in *C. hyale*, ki so se v povprečnih vrednostih med vrstama najbolj razlikovali (T-test, $p < 0.05$).

Struktura in oblika genitalij se po znani literaturi (Higgins 1975) izkaže za dober določevalni znak med vrstama. Vendar naše meritve tega ne potrdijo. Med drugim se tudi oblikovanost znakov na krilih in sama obarvanost in oblika kril, kot predvideno, ne izkaže za dober določevalni znak. Vse meritve na izbranih znakih so pokazale razlike med vrstama v najboljšem primeru le v povprečnih meritev. Na krilih se je izkazalo, da je odstotek razlikovalnih znakov, ki vsaj v povprečjih ločujejo vrste (ob upoštevanju

normalnosti razporeditve in nizkih korelacij med znaki), od 25 znakov 5 znakov, kar je 28%. Na genitalijah pa od 13 meritev, 5 ustreznih, kar pomeni skoraj 40 %. Poleg tega nam odstotek pravilno uvrščenih živali na podlagi znakov na genitalijah poda boljšo ločitev na podlagi morfologije genitalij kot znakov zunanje morfologije (krila, oprsje, antene). Zaradi visoke variabilnosti teh znakov smo v vrednostih znakov opazili znatno prekrivanje med vrstama. Po literaturi (npr. Tolman in Lewington 2008, Kudrna 1981), naj bi bil najzanesljivejši določevalni znak med vrstama ravno obarvanost sprednjega krila, ki naj bi bila pri rumenem senoženiku intenzivno rumena, pri bledem pa blede rumena. Vendar se v naših vzorcih ta znak ni izkazal kot uporaben za ločevanje med vrstama. Problem opisnih znakov je vedno tudi ta, da niso objektivni. Poleg tega nismo našli niti kakšen drug zelo uporaben znak na krilih, oprsju ali antenah, ki bi zanesljivo ločeval obe vrsti. Nasprotno, da smo lahko sploh izvedli multivariatno statistično analizo, smo tveganje pri T-testu morali dvigniti na kar 10 %, kar nam je edino zagotavljalo zadostno število znakov za izvedbo analiz.

Variabilnost vrste je lahko tudi vzrok prilagajanju na zunanje okoljske spremembe, kot so razpoložljivost hranil, klima in izbira mikrohabitata. Visoka fenotipska plastičnost je gonilo preživetja vsake populacije organizmov v danem okolju in pripomore k preživetju le-teh (Brakefield in French 1999). Razporeditev živali glede na razpoložljivost hranil v okolju izpostavi tudi Courtney 1982 v raziskavi, kjer proučuje vrsto zorica (*Anthocharis cardamines* (Linnaeus 1758)) in ugotovi, da se glede na spremembe v okolju prilagaja tudi način prehrane njenih gosenic (Courtney 1982).

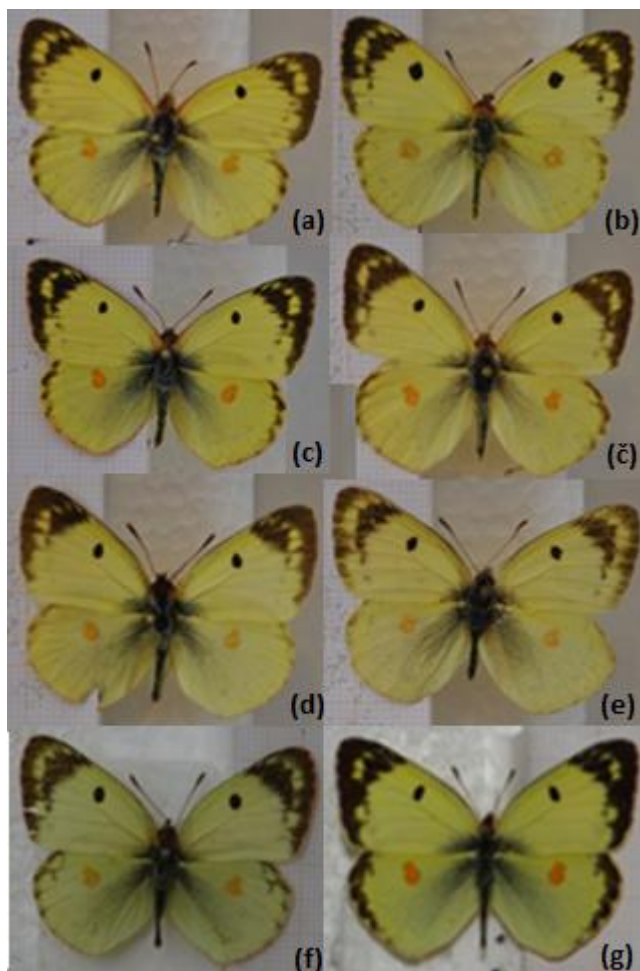
Živali v naših vzorcih so bile iz različnih geografskih območij zbrane v različnih letih. Ker ima rod senoženikov več generacij na leto, sklepamo da ta dejavnik lahko dodatno poveča variabilnost vzorca ene in druge vrste ter posledično zniža sposobnost ločevanja. Variabilnost med sezonskimi generacijami izpostavljata tudi Zdenek in Martin 2002 v raziskavi na koprivovem pajčevinarju (*Araschnia levana* (Linnaeus 1758)), pri katerem se obarvanost sprednjih kril razlikuje med poletno in pomladno generacijo. Ugotovila sta, da ima poletna generacija boljšo mobilnost in leti na daljše razdalje. Poletna generacija ima večje oprsje, nižje razmerje med velikostjo abdomna in telesno maso ter večja krila. Opisane lastnosti jim omogoča hitrejšo disperzijo na velike razdalje. Ker se kot odgovor selekcijskemu pritisku na spremembe v okolju živali odzovejo s prilagajanjem na nivoju morfoloških sprememb, jim to omogoča preživetje v vedno spreminjajočem se okolju (Zdenek in Martin 2002). Nekatere vrste kot odgovor na okoljske spremembe v temperaturi in fotoperiodi razvijejo fenotipsko plastičnost, ki se odraža v različni obarvanosti kril in oblikovanosti vzorca na krilih (Shapiro 1976, Brakefield in sod. 1996, Brakefield in French 1999).

Živali smo določevali na podlagi opisnega znaka zobca na valvi genitalij, saj je pri bledem senoženiku rahlo vitkejši, pa tudi baza zobca je ožja (Higgins 1975). Vendar povprečja meritev večjih razlik niso pokazale. Izpostaviti moramo tudi možnost napake pri meritvah. Kljub temu, da so meritve bile opravljene dvakrat, je lahko prišlo do meritvenih napak. Verjetno pa smo večjo napako pri meritvah naredili na genitalijah, saj so te zelo majhne. Zato morda ni presenetljivo, da smo po vizuelnem pregledu na podlagi oblike genitalij obe vrsti brez večjih težav prepoznali, morfometrijska analiza pa obeh vrst na podlagi znakov na genitalijah ni jasno ločila. Res pa je tudi, da smo v morfometrijski analizi uporabili drugačen tip znakov (meritve) kot pri vizualnem določanju (večinoma opisni znaki). Vseeno pa smo potrdili hipotezo, da je ločevanje na osnovi genitalnih struktur v primerjavi z zunanjo morfologijo uspešnejše (gl. rezultate DA).

Na podlagi opisnih znakov na zunanji morfologiji kril sta Mérit in Mérit 2000 ugotovila, da z gotovostjo ločimo vrsti med seboj. Kot določevalni znak so uporabljali zaobljenost apeksa in zunanji rob sprednjega krila. Uporabljali so tudi opisni znak za različno obarvanost anten, kril in nog. Čeprav smo naše živali poskusili ločevati po obeh znakih, se je v našem primeru zaradi variabilnosti obeh vrst izkazal za slab ločevalni znak.

Poleg vseh teh opisnih in merjenih morfoloških znakov lahko za razlikovanje vrst uporabimo tudi zasedanje različnih habitatov. Znano je, da se blede senoženik pojavlja na cvetočih in travnatih površinah na bogatih tleh, medtem ko rumeni senoženik vedno izbira skalnata pobočja, jarke in suha travnata območja, pogosto z nizkim grmičevjem na apnenčasti podlagi. Cleary in sod. (2002) so z genetsko raziskavo ekologiji rumenega in bledega senoženika to tudi potrdili.

Da je variabilnost v zunanji morfologiji (zlasti obarvanosti kril) pri obeh proučevanih vrstah zares visoka, potrjujemo s serijo izbranih fotografij obeh vrst (Slika 12). Pri obeh vrstah lahko namreč opazimo različne odtenke obarvanosti kril, zato je ločevanje na osnovi obarvanosti po naše zelo nezanesljivo, čeprav jih Mérit in Mérit (2000) navajata kot uporabne. Opazimo lahko, da se pojavlja isti odtenek rumene, pri rumenem (primer na Sliki 12a) in bledem senoženiku (Slika 12b), čeprav naj bi po literaturnih navedbah obarvanost kril bledega senoženika bila bolj blaga. Tega v več primerih ne moremo potrditi (gl. tudi druge primere na Sliki 12). Poleg tega lahko vidimo na slikah 12b (bledi senoženik) in 12c (rumeni senoženik) variabilnost v velikosti črnega znaka med celicama S4 in S5. Vidno je, da ima rumeni senoženik s fotografije 12c večji znak, medtem ko ima blede senoženik občutno manjši znak. Po literaturi (Tolman in Lewington 2008) je znano, da je znak večji pri rumenem senoženiku, česar naša opazovanja ne potrdijo.



Slika 12. Prikaz variabilnosti kril pri *Colias alfacariensis* (Slike a, c, d in f) in *C. hyale* (Slike b, č, e in g).

4 ZAKLJUČEK

Z morfometrijskimi meritvami dveh ozko sorodnih vrst senožetnikov smo pokazali:

(1) na obstoj dodatnih znakov na genitalijah in krilih, ki bodo ločevanje na morfološki osnovi med obema vrstama nadalje nekoliko olajšali. Znak, po katerem smo vrsti določevali, je bila zašiljenost zobca na robu valve. Kljub temu, da smo vrsti na podlagi tega znaka pravilno določili, nam statistične analize niso pokazale razlik v meritvah in s tem jasne ločitve dveh vrst. Določili nismo nobenega znaka, na podlagi katerega bi lahko z zagotovostjo trdili, da je dober ločevalni znak na genitalijah.

(2) Kljub temu smo ugotovili, da so vsaj nekateri izmed znakov statistično značilno različni, a imajo vsi omejeno uporabnost pri identifikaciji obeh vrst. Na krilih se je za omejeno uporaben ločevalni znak med vrstama izkazala dolžina od konca žile V7 do konca žile V1 (FWL2) in dolžina antene (AL), ki je pri rumenem senožetniku v povprečju večja. Na genitalijah pa kot omejeno uporaben znak navajamo dolžino med kotom zobca in robom glave valve (LTTV). Ugotavljamo tudi, da so vsaj nekateri opisni znaki, ki so za razlikovanje med vrstama navedeni v literaturi, zelo nezanesljivi in jih v naših vzorcih nismo uspeli zanesljivo uporabiti pri identifikaciji vrst.

(3) Predvidevali smo, da bo ločevanje med vrstama na podlagi genitalnih struktur bolj učinkovito kot na osnovi morfologije kril. Kljub temu, da so razlike majhne, lahko potrdimo, da so nekateri znaki statistično značilno različni in da je ločevanje med vrstama nekoliko bolj učinkovito na podlagi genitalnih struktur kot na osnovi morfologije kril.

5 LITERATURA

- Berger L.A., Fontaine M. 1947. Une espece meconue du genre *Colias* F. Lambillionea XLVII 11–12 : 91–111.
- Bolnick D.I., Svänback R., Fordyce J.A., Yang L.H., Davis J.M., Hulsey C.D., Forister M.L. 2002. The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. The American Naturalist: 1–28.
- Braby M.F., Vila R., Pierce N.E. 2006. Molecular phylogeny and systematics of the Pieridae (Lepidoptera: Papilionoidea): higher classification and biogeography. Zoological Journal of the Linnean Society 147: 239–275.
- Brakefield P.M., French V. 1999. Butterfly wings: the evolution of development of colour patterns. Bioessays 21: 391–401.
- Brakefield P.M., Gates J., Keys D., Kesbeke F., Wijngaarden P.J., Monteiro A., French V., Carroll S.B. 1996. Development, plasticity and evolution of butterfly eyespot patterns. Nature 384: 236–242.
- Brunton C.F.A. 1998. The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae): a phylogeny using mitochondrial DNA. Heredity 80: 611–616.
- Chaves F.G., Alves M. A. 2013. Gender-related diet composition and morphometry of the Restinga Antwren, *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae). Zoologia 30: 601–606.
- Cleary D.F.R., Descimon H., Menken S.B.J. 2002. Genetic and ecological differentiation between the butterfly sisterspecies *Colias alfacariensis* and *Colias hyale*. Contributions to Zoology 71: 131–139.
- Cleary D.F.R., Aubert J., Descimon H., Menken S.B.J. 1995. Genetic differentiation and gene flow within and between *Colias alfacariensis* (Verity) and *Colias hyale* L. (Lepidoptera: Pieridae: Coliadinae). Proceeding of the section, Experimental and Applied Entomology 6: 99–105.
- Courtney S.P. 1982. Coevolution of Pierid Butterflies and Their Cruciferous Foodplants. Oecologia 54: 101–107.
- Courtney S.P. 1986. The Ecology of Pierid Butterflies: Dynamics and Interactions. Advances in Ecological Research 5: 51–131.
- Daly H.V. 1985. Insect morphometrics. Annual Review of Entomology 30: 415–438.

- Dapporto L. 2007. Geometric morphometrics reveal male genitalia differences in the *Lasiommata megera/paramegaera* complex (Lepidoptera, Nymphalidae) and the lack of a predicted hybridization area in the Tuscan Archipelago. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46: 224–230.
- Dutreix C. 1980. Étude des deux espèces affines *Colias hyale* Linné et *Colias australis* Verity (Lep. Pieridae). *Alexanor* 11: 297–316.
- Fordyce J.A., Nice C.C., Forister M.L., Shapiro A.M. 2002. The significance of wing pattern diversity in the Lycaenidae: mate discrimination by two recently diverged species. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 871–879.
- Hammer Ø. 2014. PAST Paleontological Statistics Version 3.02. University of Oslo. Natural History Museum. <http://folk.uio.no/ohammer/past/past3manual.pdf>
- Higgins L.G. 1975. The classification of European butterflies. London, Collins.
- Jolliffe I.T. 2002. Principal Component Analysis. New York, Springer.
- Jugovic J., Koren T. 2014. Wing pattern morphology of three closely related *Melitaea* (Lepidoptera, Nymphalidae) species reveals highly inaccurate external morphology-based species identification. *Nota lepi.* 37: 75–90
- Kemp D. J., Rutowski R.L., Mendoza M. 2005. Colour pattern evolution in butterflies: a phylogenetic analysis of structural ultraviolet and melanic markings in North American sulphurs. *Evolutionary Ecology Research* 7: 133–141.
- Kingsolver J.G. 1985. Thermoregulatory significance of wing melanization in Pieris butterflies (Lepidoptera: Pieridae): physics, posture and pattern. *Oecologia* 66: 546–553.
- Kudrna O. 1981. On the nomenclature of *Colias alfacariensis* Berger 1948 (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 20: 103–110.
- Linton, L.R. in sod. 1981. Resource utilization indices: an assessment. *Journal of Animal Ecology* 50: 283–292.
- Lomnick, A. 1988. Population Ecology of Individuals. Princeton, Princeton University Press.
- Mankiewicz R. 2004. The Story of Mathematics. Princeton University Press.
- Mérit X., Mérit V. 2000. *Colias hyale* Linné ou *Colias alfacariensis* Ribbe? Clés pour la détermination de deux espèces difficiles (Lepidoptera, Pieridae). *Bulletin des Lépidoptéristes Parisiens* 9: 33–36.

Peres-Neto P.R. 1995. Introdução às análises morfométricas. *Oecologia Brasiliensis*: 57–89.

Pielou, E.C. 1972. Niche Width and Niche Overlap: a method for measuring them. *Ecology* 53: 687–692.

Prieto C.G., Munguira M.L., Romo H. 2009. Morphometric analysis of genitalia and wing pattern elements in the genus *Cupido* (Lepidoptera, Lycaenidae): are *Cupido minimus* and *C. carswelli* different species?. *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 56: 137–147.

Shapiro A.M. 1986. Seasonal polyphenism. *Evolutionary Biology* 9: 259–333.

Stavenga D.G., Stowe S., Siebke K., Zeil J., Arikawa K. 2004. Butterfly wing colours: scale beads make white pierid wings brighter. *Proceedings of the Royal Society* 271: 1577–1584.

Stephens, M. A. 1974. EDF Statistics for Goodness of Fit and Some Comparisons. *Journal of the American Statistical Association* 69: 730–737.

Fairbairn D.J., Blanckenhorn W.U., Székely T. 2007. Sex, size, and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. Oxford, Oxford University Press.

Tolman T., Lewington R. 2008. *Collins Butterfly Guide*. London, HarperCollins Publishers Ltd.

Zdenek F., Konvička M. 2002. Generations of the polyphenic butterfly *Araschnia levana* differ in body design. *Evolutionary Ecology Research* 4: 1017–1032.

Zheng G., Joo J., Yang Y. 2009. Pearson's Test, Trend Test, and MAX Are All Trend Tests with Different Types of Scores. *Annals of Human Genetics* 73: 133–140.

Priloga A. Slika prikazuje ožiljenost sprednjega in zadnjega krila pri metuljih (Tolman in Lewington 2008).

